

ISSN 0100-736X

Volume 8 Números 1/2
Jan/Jun 1988

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Brazilian Journal of Veterinary Research



Revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, é revista bilingüe trimestral editada pelo Colégio Brasileiro de Patologia Animal e publica trabalhos originais de pesquisa no campo da patologia animal no seu sentido amplo, principalmente sobre doenças de importância econômica. 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. Arteché, Eduardo H. Birgel, Hans Blobel, Pedro Gonçalves Cabral, A.F. Pestana de Castro, Milton de Souza Dayrell, Gerrit Dirksen, Laerte Grisi, Eberhard Grunert, Jorge Almeida Guimarães, Gerhard Habermehl, Ernesto Hofer, Michael R. Honer, Mario Mariano, Anton Mayr, Francisco Megale, Hans Merkt, Gonzalo E. Moya, Ronaldo Reis, Carlos H. Romero, Ivan B. Machado Sampaio, Hermann G. Schatzmayr, L.-Cl. Schulz.

A correspondência referente à publicação de trabalhos e a outros assuntos técnico-científicos editoriais deve ser endereçada ao (*All editorial communications, including typescripts, should be addressed to*), Dr. Jürgen Döbereiner, Embrapa-UAPNPSA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851 (Brazil); tels.: (021) 782-1081 e 782-1082.

Este número é publicado e distribuído com o apoio concedido pelo Programa MCT/CNPq/Finep, da Embrapa e UFRRJ

Figura da capa: A deficiência de fósforo nas pastagens de *Brachiaria decumbens*, em regiões de cerrado, é a causa da osteofagia que dá origem aos surtos de Botulismo Epizootico dos Bovinos em diversas partes do Brasil. (Tokarnia et al., p. 1)

Cover illustration: Phosphorus deficiency in pastures with *Brachiaria decumbens* in "cerrado" (savanna) regions is the cause of bone chewing which often leads to severe outbreaks of Epizootic Botulism of Cattle in different parts of Brazil. (Tokarnia et al., p. 1)

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

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

**Pesquisa veterinária brasileira = Brazilian journal of veterinary
research - v. 1 - n. 1 - 1981 -**

**Rio de Janeiro : Colégio Brasileiro de Patologia Animal,
1981 -**

v. trim. ISSN 0100-736X

**1. Pesquisa veterinária - Periódicos - Brasil. I. Colégio
Brasileiro de Patologia Animal, ed. II. Título: Brazilian journal
of veterinary research.**

CDD 636.089

CDU 619:616(81)(05)

**Publicidade: NEOTÉCNICA Editora Ltda., Av. Passos 115, s/501
20051 - Rio de Janeiro, RJ (Tel.: 263-7561)**

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 8

Janeiro/Junho 1988

Números 1/2

SUMÁRIO

Situação atual e perspectivas da investigação sobre nutrição mineral em bovinos no Brasil. <i>C.H. Tokarnia, J. Döbereiner & S.S. Moraes</i>	1-16
Aspectos epidemiológicos da Leishmaniose visceral em cães de Corumbá, Mato Grosso do Sul. <i>V.L.B. Nunes, Y.Y. Yamamoto, F.A. Rego Jr., M.E.C. Dorval, E.A.B. Galati, E.T. Oshiro e M. Rodrigues</i>	17-21
Reprodução da linfadenite caseosa em caprinos com pequeno número de <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>. <i>J. Langenegger & C.H. Langenegger</i>	23-26
Avaliação de vacina contra linfadenite caseosa em caprinos mantidos em regime extensivo. <i>O.C. Ribeiro, J.A.H. Silva, P.C.C. Maia & W.G. Campos</i>	27-29
Distúrbios reprodutivos em touros <i>Bos indicus</i>, <i>B. taurus</i> e mestiços, criados em clima amazônico. <i>O.M. Ohashi, J.S. Sousa, H.F.L. Ribeiro & W.G. Vale</i>	31-35
Botulismo enzoótico em búfalos no Maranhão. <i>J. Langenegger & J. Döbereiner</i>	37-42
Tópico: Vigilância sanitária da Brucelose Bovina pela Prova do Anel nas bacias leiteiras	v-vi

CONTENTS

Investigations on mineral nutrition of cattle in Brazil; a review. <i>C.H. Tokarnia, J. Döbereiner & S.S. Moraes</i>	1-16
Epidemiological situation of visceral Leishmaniasis in dogs in Corumbá, Mato Grosso do Sul, Brazil. <i>V.L.B. Nunes, Y.Y. Yamamoto, F.A. Rego Jr., M.E.C. Dorval, E.A.B. Galati, E.T. Oshiro e M. Rodrigues</i>	17-21
Reproduction of caseous lymphadenitis in goats by small numbers of <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>. <i>J. Langenegger & C.H. Langenegger</i>	23-26
Evaluation of an inactivated vaccine against caseous lymphadenitis of goats kept under extensive management. <i>O.C. Ribeiro, J.A.H. Silva, P.C.C. Maia & W.G. Campos</i>	27-29
Reproductive disturbances in <i>Bos indicus</i>, <i>B. taurus</i> and crossbred bulls, in the Amazon region. <i>O.M. Ohashi, J.S. Sousa, H.F.L. Ribeiro & W.G. Vale</i>	31-35
Enzootic botulism of water buffaloes in Maranhão, Brazil. <i>J. Langenegger & J. Döbereiner</i>	37-42

ISSN 0100-736X

Pesq. Vet. Bras., Rio de Janeiro, v.8, n.1/2, p.1-42, jan./jun.1988

EDITORIAL

A revista PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA assume papel cada vez mais importante no cenário técnico-científico da pecuária nacional e por isso foi selecionada para fazer parte do "Programa de Apoio a Publicações Científicas, MCT-CNPq-Finep". Esta escolha significa um reconhecimento das características particulares da revista e da atuação dos colegas que até agora participaram na sua edição, sejam eles membros do Conselho Editorial, da Assessoria Científica ou Assessores *ad hoc*, mas principalmente os autores dos trabalhos publicados. Este reconhecimento é um estímulo para que todos continuem somando esforços e levem adiante esta publicação que serve de base para a apresentação e discussão científica de novos conhecimentos na área de Medicina Veterinária e fornece dados a serem usados nas atividades de extensão e transferência de tecnologia, visando um aumento da produção, em qualidade e quantidade, em todos os níveis da economia pecuária, bem como para a Saúde Pública. Com a publicação dos resultados de pesquisa justificam-se os recursos empregados. Convidamos a todos para continuar colaborando com a revista, assumindo as responsabilidades, cada vez maiores, no conjunto das atividades que levam à efetivação de um Sistema Integrado de Saúde Animal, onde cada Unidade, Instituto, Departamento, Laboratório ou Grupo de Pesquisa tem a sua importância e razão de ser, dentro de um consenso prático comum de realizações.

Lamentamos que a crescente depressão econômica do País, nos últimos anos, tenha atingido também as instituições de pesquisa e conseqüentemente a redução da produção científica. Paralelamente a revista Pesquisa Veterinária Brasileira sofreu limitação e atrasos na liberação dos recursos destinados à sua edição, por parte dos órgãos financiadores, o que nos forçou a editar somente 2 números por ano, a partir do volume 8(1988), até que a revista possa voltar à sua periodicidade trimestral.

JÜRGEN DÖBEREINER

Editor

40ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, São Paulo, SP,
10-16.7.1988

Informações: SBPC, Av. Pedroso de Moraes 1512, São Paulo, SP 05420; Cx. Postal 11.008, São Paulo, SP
05499; tel. (011)211-0495, 212-0740; telex 1154164 SBHC)

10º Congresso da Sociedade Veterinária Internacional de Suínos (IPVS), Rio de Janeiro, RJ,
14-17.8.1988

(Secretaria do Congresso: Congrex do Brasil, Rua do Ouvidor 60/614, Rio de Janeiro, RJ 20040; tel.
(021)224-6080; telex (021)320891 CERT BR)

XI Congresso Panamericano de Ciências Veterinárias, Lima, Peru, 14-20.8.1988

(Agência Oficial: ÉKODA-Agência de Viagens e Turismo Ltda., Av. Rio Branco 277, loja E/sala 1306, Rio de Janeiro, RJ 20040; tel. (021)262-5420, 252-5237; telex (21) 32456 EKDA BR)

XXI Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Salvador, Bahia, 2-7.10.1988

(Agência Oficial: Eventus-Operadora de Congressos Ltda., R. Oito de Dezembro 547, Graça, 40130 Salvador, Bahia; tel. (071) 247-4978, 247-8119, 245-1998; telex (71) 3228)

XV Congresso Mundial de Buiatria, Palma de Mallorca, Espanha, 11-14.10.1988

(Agência Oficial: ÉKODA-Agência de Viagens e Turismo Ltda., Av. Rio Branco 277, loja E/sala 1306, Rio de Janeiro, RJ 20040; tel. (021)262-5420, 262-5237; telex (21) 32456 EKDA BR)

VIGILÂNCIA SANITÁRIA DA BRUCELOSE BOVINA PELA PROVA DO ANEL NAS BACIAS LEITEIRAS

A brucelose é doença infecto-contagiosa que no bovino se caracteriza por causar abortos em torno do 7^o mês de gestação. Mais raramente ela ainda se manifesta pelo nascimento de bezerros fracos ou nati-mortos e retenção de placenta. Nos machos podem ocorrer orquites e vesiculites. Esporadicamente a brucelose causa também bursites da cernelha e na altura das articulações carpais e tarsais. A brucelose bovina é causada pela bactéria *Brucella abortus*.

A principal fonte de contágio para os bovinos sadios é o feto abortado, a placenta e qualquer substrato recém contaminado com líquidos fetais resultantes de um aborto ou parto séptico. *Br. abortus*, em contacto com a mucosa oral ou outra, passa para a corrente sanguínea e, antes que o organismo consegue mobilizar seu sistema imunológico, alcança os cotilédones da vaca em gestação bem como o úbere que lhe servem de abrigo.

A presença de *Br. abortus* no úbere geralmente é muito prolongada e pode ser detectada pela pesquisa da bactéria no leite ou, mais simplesmente, pela evidenciação de aglutininas no leite.

1. Porque a Prova do Anel (Ring test)

A pesquisa de aglutininas anti-*Brucella* no leite pode ser feita pela Prova de Anel (Ring test) que, por ser muito sensível, permite usá-lo em amostras compostas, isto é, no leite do latão. Esta é uma grande vantagem desta prova, pois através de uma amostra de leite colhida nos latões na plataforma de recepção de uma usina ou de um entreposto é possível reconhecer a existência de rebanhos infectados numa determinada região. Isto permite que a estes rebanhos contaminados possa ser dada uma atenção especial no combate da doença e à sua possível disseminação.

2. A técnica adaptada para o leite em latões

A Unidade de Pesquisa em Saúde Animal da EMBRAPA, Km 47, desenvolveu um conjunto de procedimentos para a realização da Prova do Anel nas plataformas de recepção de leite que facilitam a execução da prova no local e o exame de até 1.000 latões numa manhã. Consiste do seguinte: Na chegada dos latões após a homogeneização do leite colhe-se 1 ml de leite com pipeta automática e coloca-se num tubo de hemólise enumerado, fixo em estante. Em cada estante, também identificada, há duas carreiras de 20 tubos com números corridos de 1 a 40 e que são separadas por uma lâmina opaca de cor branca. Em protocolo próprio são anotados o nome do proprietário e o número de latões do mesmo. Uma vez completada a estante com amostras de leite de 40 latões, acrescenta-se a cada tubo uma gota (0,03 ml) de antígeno da Prova do Anel a cada tubo. Em seguida a estante com os 40 tubos é movimentada até que o leite e o antígeno formam uma coluna azulada uniforme. A estante é agora colocada em estufa ou banho-maria com temperatura de 37°C, durante 40 minutos e depois feita a leitura, registrando-se o resultado no protocolo obedecendo-se os seguintes critérios:

3. Interpretação da Prova do Anel

Reação positiva – a coluna de leite se torna branca e o anel de gordura é azul;

Reação negativa – a coluna de leite permanece azulada e o anel de gordura é amarelado;

Reação suspeita – a coluna de leite e o anel de gordura permanecem ligeiramente azulados.

A Prova do Anel que se manifesta com as características acima descritas, consiste basicamente numa reação de aglutinação entre anticorpos e bactérias coradas em azul do antígeno. Se no leite houver anticorpos, estes aglutinam as brucelas do antígeno, formando grumos que, desta forma, apresentam maior tensão superficial, fazendo com que os grumos adiram às gotículas de gordura do leite e estas, ao formarem o anel de gordura sobre o leite, coram de azul o anel. A coluna de leite, agora sem bactérias coradas, se torna branca.

Se na amostra de leite não houver anticorpos, as bactérias coradas do antígeno permanecem isoladas, dispersas, e não são carregadas com as gotículas de gordura e assim o anel de gordura permanece amarelado. Desta maneira, a Prova do Anel expressa a presença ou ausência de anticorpos anti-brucela o que por sua vez indica a presença ou ausência da infecção brucélica no úbere.

4. Considerações sobre o alcance da Prova do Anel

A Prova do Anel, realizada em amostras de leite de latões, torna-se um teste massal que revela apenas que um determinado rebanho está com brucelose, e não pode indicar qual ou quais dos animais estão infectados. Para a vigilância sanitária este resultado é importante, porque o sanitarista obtém um panorama sobre a situação da brucelose na região e pode depois concentrar sua atenção aos rebanhos com brucelose.

A Prova do Anel, além de ser facilmente executada, sua realização é pouco dispendiosa, motivo pelo qual pode ser repetida em períodos relativamente curtos, por exemplo, a cada 90 dias.

A Prova do Anel tem alta sensibilidade e especificidade no diagnóstico da brucelose no rebanho. O teste acusa a presença de aglutininas no leite, mesmo que se misture o leite de um quarto infectado com o de 20 vacas sadias. Por sua vez, a alta confiabilidade do teste no leite do latão baseia-se no fato de que as vacas em lactação no rebanho constituem-se numa amostragem altamente representativa por serem sempre em maior número do que as vacas falhadas.

Cumpra, no entanto, lembrar que a Prova do Anel tem algumas limitações, principalmente no teste individual por vaca. O colostro e o leite do final da lactação podem causar falsas reações suspeitas, às vezes mesmo positivas. Embora muito raramente, em alguns tipos de mastite, o leite pode apresentar reações inespecíficas, como por exemplo, em decorrência de mastite causada por *Yersinia enterocolytica* tipo IX. Neste caso desenvolvem-se

gamaglobulinas IGMs, porém não IGGs, estas últimas, específicas da brucelose.

Por outro lado é necessário esclarecer que, após a maioria das infecções por *Br. abortus* em vacas, desenvolvem-se simultaneamente aglutininas no sangue e no leite, detectáveis aquelas pela soro-aglutinação rápida ou lenta e estas pela Prova do Anel; mas há casos em que a soro-aglutinação é positiva e a Prova do Anel permanece negativa e vice-versa. Na primeira situação, admite-se que a infecção não chegou a localizar-se no úbere. Na segunda circunstância, supõe-se que o organismo, após ter vencido a infecção, as aglutininas no sangue caíram até níveis não mais detectáveis, enquanto no úbere a presença de *Br. abortus* mante-

ria a eliminação destes anticorpos pelo leite, mesmo quando apenas localizado num só quarto.

Ainda deve ser lembrado que títulos persistentes (1:25, 1:50 e mesmo 1:100) no soro-sangüíneo, resultantes da vacinação de bezerras com B19, não apresentam reações no leite, no entanto, vacas vacinadas já adultas, podem apresentar reações positivas na Prova do Anel.

JEROME LANGENEGGER

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

Artigo de Revisão

SITUAÇÃO ATUAL E PERSPECTIVAS DA INVESTIGAÇÃO SOBRE NUTRIÇÃO MINERAL EM BOVINOS NO BRASIL¹

CARLOS HUBINGER TOKARNIA², JÜRGEN DÖBEREINER³ e SHEILA S. MORAES³

	Página
Abstract e Sinopse	1
I. Introdução	1
II. Diagnóstico de Deficiência Mineral	3
III. Situação Atual da Investigação sobre Nutrição Mineral em Bovinos no Brasil	4
IV. Discussão e Conclusões	14
V. Perspectivas da Investigação sobre Nutrição Mineral em Bovinos no Brasil	15
Referências	15

ABSTRACT.- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Moraes, S.S. 1988. [Investigations on mineral nutrition of cattle in Brazil; a review.] Situação atual e perspectivas da investigação sobre nutrição mineral em bovinos no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 8(1/2):1-16. Depto Nutrição Animal, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, and Embrapa-UAPNPSA, Km 47, Seropédica, RJ 23851, Brazil.

A review of studies made in Brazil on disorders of mineral metabolism in cattle, mainly mineral deficiencies, and on botulism, the most important complication of phosphorus deficiency, is presented. Only studies made after 1976 are considered, this review being a continuation of that presented at the Latin American Symposium on Mineral Nutrition Research in Grazing Ruminants, Belo Horizonte, Brazil, 1976.

The mineral deficiencies diagnosed in bovines in Brazil were those of P, Na, Co, Cu, I, Zn and Mn (this last depending on the excess of Fe in the pasture and excess supplementation with Co); low values of Se in liver and blood serum samples were obtained in certain areas. Epizootic botulism was diagnosed in large areas where phosphorus deficiency occurs. Copper poisoning, hypocalcemia due to the ingestion of pasture rich in oxalates, and fluorine poisoning were diagnosed.

The occurrences of the diagnosed mineral deficiencies up to 1976, and from 1976 to 1987, and of epizootic botulism were registered in 3 maps, together with the respective bibliographic references.

INDEX TERMS: Mineral nutrition, mineral deficiencies, mineral toxicities, botulism, cattle, Brazil.

SINOPSE.- É apresentada uma revisão dos estudos realizados no Brasil sobre perturbações no metabolismo mineral em bovinos, sobretudo deficiências minerais, e sobre botulismo, a complicação mais importante da deficiência de fósforo. Nesta revisão são considerados os trabalhos publicados após 1976, e ela constitui uma atualização de uma anterior, apresentada durante o Simpósio Latino-Americano sobre Pesquisa em Nutrição Mineral de Ruminantes em Pastagens, em Belo Horizonte, 1976.

As deficiências minerais diagnosticadas em bovinos no Brasil foram as de P, Na, Co, Cu, I, Zn, Mn (última condicionada ao excesso de Fe na pastagem e suplementação excessiva de Co); foram obtidos valores baixos de Se em amostras de fígado e de soro sanguíneo em certas regiões. O botulismo epizootico foi diagnosticado em extensas regiões onde ocorre deficiência de fósforo. Foram diagnosticadas intoxicação por cobre, hipocalcemia devido

a ingestão de pastagem rica em oxalatos e a intoxicação por flúor.

As ocorrências de deficiências minerais diagnosticadas até 1976, as de 1976 a 1987 e as de botulismo epizootico foram lançadas em 3 mapas, com as respectivas referências bibliográficas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Nutrição mineral, deficiências minerais, excessos minerais, botulismo, bovinos, Brasil.

I. INTRODUÇÃO

Desde o Simpósio Latino-Americano sobre Pesquisa em Nutrição Mineral de Ruminantes em Pastagens, realizado em Belo Horizonte em 1976, quando fizemos uma estimativa da situação da pesquisa sobre deficiências minerais em ruminantes no Brasil até aquela data, a investigação desse assunto tem feito progressos bastante grandes em nosso país. Ultimamente têm sido alvo principal dessas pesquisas as Regiões Centro Oeste e Norte, nas quais o grande incremento ocorrido na criação de bovinos confirmou os fortes indícios de que deficiências minerais são de muita importância como fator limitante na criação de gado.

¹ Trabalho apresentado durante a Reunião sobre Determinação de Carências e Suplementação Mineral em Bovinos, realizada de 8 a 12 de junho de 1987 em Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

² Departamento de Nutrição Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23851; bolsista do CNPq (30.50 10/76-VT-07).

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

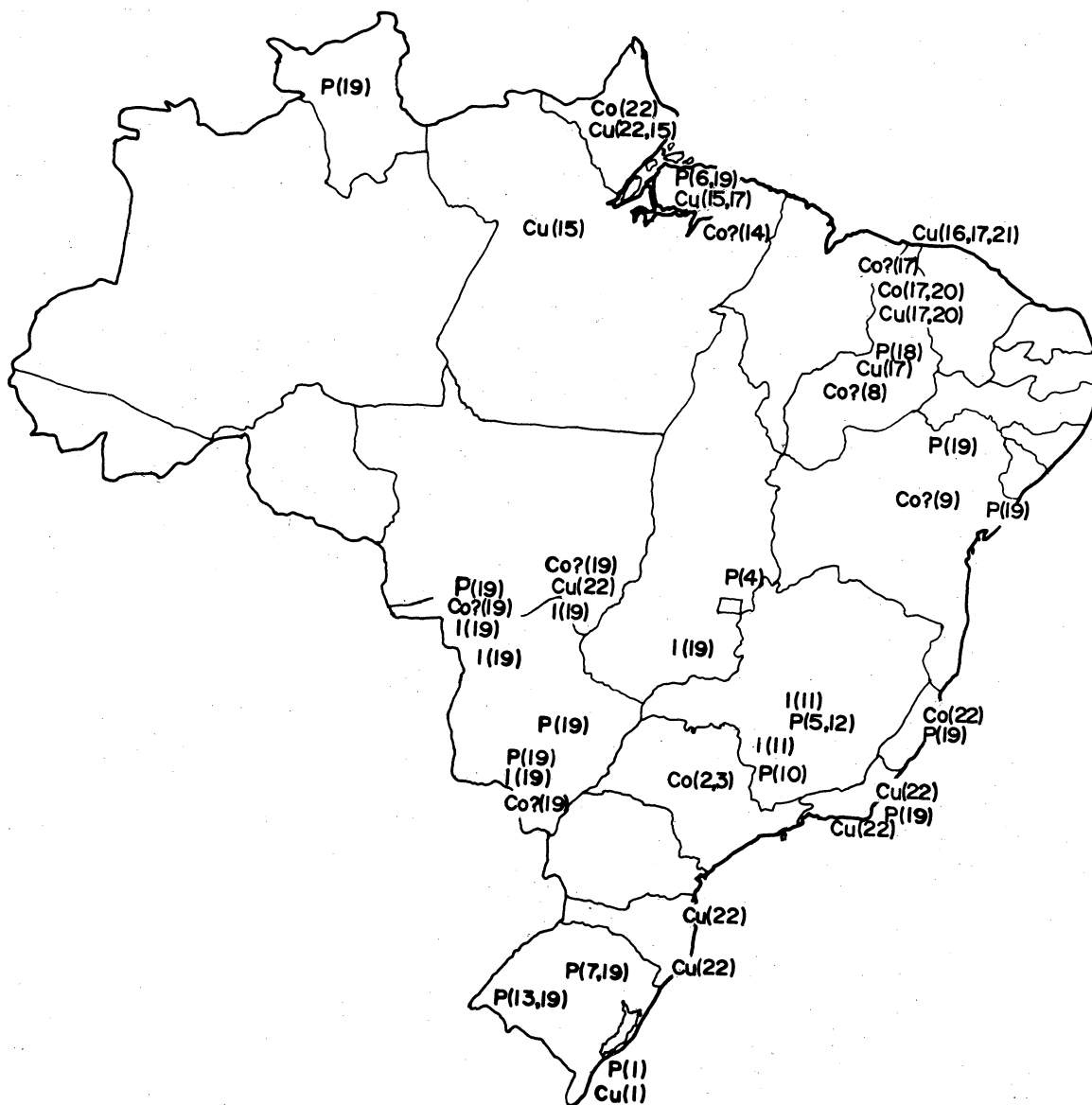


Fig. 1. Deficiências minerais diagnosticadas no Brasil até 1976. Os números em parênteses indicam a fonte de informação obtida da seguinte literatura:

- (1) Bauer A.C., Santos A.G. & Mancuso P.C. 1964. Algumas observações sobre uma doença de bovinos no município de Santa Vitória do Palmar. III Conf. Soc. Vet. Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p. 153-161. - (2) Corrêa R. 1955. Carência de cobalto em bovinos no Estado de São Paulo. *Revta bras. Biol.* 15:309-313. - (3) Corrêa R. 1957. Carência de cobalto em bovinos. *Arqs Inst. Biológico, S. Paulo*, 24:199-227. - (4) Dayrell M.S., Döbereiner J. & Tokarnia C.H. 1973. Deficiência de fósforo em bovinos na região de Brasília. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.*, 8:105-114. - (5) Gióvine N. 1943. Estudo clínico da deficiência de fósforo nos bovinos de Minas Gerais. *Arqs Esc. Vet., Belo Horizonte*, 1:17-25, 7 fig. - (6) Guimarães J.M.A.B. & Nascimento C.N.B. 1971. Efeito da suplementação mineral sobre a percentagem de nascimentos de bezerras em rebanhos de bovinos de corte na Ilha de Marajó. *Série: Estudos sobre Bovinos, IPEAN, Belém, Pará, Vol. 1 (No. 2)*, p. 37-51. - (7) Grunert E. & Santiago C. 1969. Über den Einfluss von Knochenfuttermehl auf die Fruchtbarkeit von Fleischrindern in Rio Grande do Sul, Brasilien. *Zuchthyg.* 4:65-71. - (8) Iglesias F.A. 1951. Caatingas e chapadões. *Sér. 5ª Brasília-na*, vol. 271. Biblioteca Pedagógica Brasileira, Editora Nacional, São Paulo, p. 357-363. - (9) Macedo J.N. 1952. Fazendas de gado no vale de São Francisco. *Documentário da Vida Rural nº 3, SIA, Min. Agricultura, Rio de Janeiro*. - (10) Megale F. 1949a. Sobre a incidência de esterilidade em vacas no Estado de Minas Gerais. *Arqs Esc. Vet., Belo Horizonte*, 2:17-27. - (11) Megale F. 1949b. Contribuição ao estudo do bócio congênito nos bezerras, no Estado de Minas Gerais. *Arqs Esc. Vet., Belo Horizonte*, 2:143-150. - (12) Menicucci Sobrinho L. 1943. Carência de fósforo e cálcio nos bovinos. *Arqs Esc. Vet., Belo Horizonte*, 1:9-15. - (13) Santos V.T. & Pereira Neto E. 1963. II Reunião de Zootecnia e Veterinária, Bagé, Rio Grande do Sul, p. 63. - (14) Soares L.C. 1963. Guia de Excursão nº 8, realizada por ocasião do XVIII Congr. Int. Geogr., Conselho Nacional de Geografia, Rio de Janeiro, p. 304. - (15) Suttmöller P., Abreu A.V., Grift J. van der & Sombroek W.G. 1966. Mineral imbalances in cattle in the Amazon valley. *Communication nº 53, Dep. Agric. Res., Amsterdam*. - (16) Tokarnia C.H., Canella C.F.C. & Döbereiner J. 1960. Deficiência de cobre em bovinos no delta do Rio Parnaíba, nos Estados do Piauí e Maranhão. *Arqs Inst. Biol. Animal, Rio de J.*, 3:25-37. - (17) Tokarnia C.H., Canella C.F.C., Guimarães J.A. & Döbereiner J. 1968. Deficiências de cobre e cobalto em bovinos e ovinos no nordeste e norte do Brasil. *Pesq. Agropec. Bras.* 3:351-360. - (18) Tokarnia C.H., Canella C.F.C., Guimarães J.A., Döbereiner J. & Langenegger J. 1970. Deficiência de fósforo em bovinos no Piauí. *Pesq. Agropec. Bras.* 5:483-494. - (19) Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1978. Observações próprias, em: *Diseases caused by mineral deficiencies in cattle raised under range conditions in Brazil*. p. 163-169. In: Conrad J.H. & McDowell L.R. (ed) *Latin American Symposium on Mineral Nutrition Research with Grazing Ruminants*, Belo Horizonte, Brazil. - (20) Tokarnia C.H., Döbereiner J., Canella C.F.C. & Dâmaso M.N.R. 1961. Deficiência de cobalto em bovinos na Serra da Ibiapaba, no Estado do Ceará, *Arqs Inst. Biol. Animal, Rio de J.* 4:195-202. - (21) Tokarnia C.H., Döbereiner J., Canella C.F.C. & Guimarães J.A. 1966. Ataxia enzoótica em cordeiros na costa do Piauí. *Pesq. Agropec. Bras.* 1:357-382. - (22) Tokarnia C.H., Guimarães J.A., Canella C.F.C. & Döbereiner, J. 1971. Deficiências de cobre e cobalto em bovinos e ovinos em algumas regiões do Brasil. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.*, 6:61-77.

No Brasil, até 1976, haviam sido diagnosticadas deficiências de P, Co, Cu, e I em bovinos em regime de campo (Fig. 1). Já ficara bem estabelecido que a deficiência de fósforo era, destacadamente, a mais importante, mas que deficiências de cobre e cobalto também ocorriam em amplas áreas, sendo a de iodo limitada a algumas poucas áreas do Brasil. Secundariamente à deficiência de fósforo foi diagnosticado botulismo sob forma epizootica no Piauí, no sul do Maranhão e norte de Goiás. Deficiências de outros minerais, que se sabia ocorrerem em outros países, como as de Zn, Mn e Se, bem como de Na e Mg, não tinham sido diagnosticadas. Dados detalhados sobre todas essas ocorrências diagnosticadas no Brasil até 1976, constam de nossa revisão publicada no Simpósio Latino-Americano sobre Pesquisa em Nutrição Mineral de Ruminantes em Pastagens, Belo Horizonte, 1976, e na sua versão inglesa atualizada editada em 1978 (Tokarnia & Döbereiner 1976, 1978).

II. DIAGNÓSTICO DE DEFICIÊNCIA MINERAL

Antes de apresentar a situação atual da pesquisa sobre deficiências minerais em bovinos no Brasil, gostaríamos de fazer alguns comentários sobre o diagnóstico de deficiência mineral.

No diagnóstico de deficiências minerais, como no de qualquer problema, é necessário que se estudem as suas diversas manifestações e que se explore o problema sob diversos ângulos, para só então tirar a conclusão do conjunto dos dados obtidos. Muito importante e o primeiro passo é o exame do *rebanho*: na maioria das deficiências minerais mais acentuadas, o histórico, o exame clínico, a realização de necropsias e estudos histopatológicos podem ajudar consideravelmente no estabelecimento do diagnóstico. Assim, a osteofagia, aliada a raquitismo e osteomalácia e baixos índices de fertilidade, indica deficiência de fósforo; a presença de bócio endêmico em bezerras indica deficiência de iodo; um histórico de que ruminantes não sobrevivem a não ser quando mudados periodicamente para "terras sadias", quando associado a sintomas de perda e perversão de apetite, emagrecimento e anemia progressiva, constitui um indício forte da existência da deficiência de cobalto; hemossiderose acentuada em baço, linfonodos e eventualmente outros órgãos sugere deficiência de cobre.

Dados valiosos podem ser colhidos através dos exames radiológicos e histológicos de fragmentos de tecido ósseo; com essa metodologia, ainda insuficientemente explorada, consegue-se colher informações seguras, entre outras, sobre o desenvolvimento do esqueleto em face das disponibilidades de P e Ca durante o desenvolvimento do animal (Dämmrich 1986, comunicação pessoal).

Porém na maioria das deficiências minerais, e sobretudo quando elas não são acentuadas, a determinação do quadro clínico-patológico, apesar de muito importante, não é suficiente. A certeza final no diagnóstico da maioria das deficiências minerais é dada por dois meios:

a) por dosagens químicas de tecido animal, de amostras de pastagem e de solo;

b) pela experimentação.

Em relação às dosagens químicas deve-se recorrer, em primeiro lugar, a análises de material proveniente de animais, e somente em segundo plano à análise de pastagens, e por último à análise do solo.

A análise de material proveniente dos animais permite verificar diretamente, com maior rapidez e mais facilmente, as deficiências existentes, com menor risco de erros na interpretação dos resultados (Boyazoglu et al. 1972, Miller & Stake 1974, Mendes 1977, Underwood 1981, Conrad 1984). Principalmente tratando-se de fígado e osso, com número relativamente pequeno de amostras pode-se chegar a conclusões bastante seguras sobre a ocorrência de deficiências minerais em extensas regiões.

A análise de amostras de fígado é eficaz para avaliar a condição do animal em relação a Co, Cu, Mn e Se, e eventualmente Zn. Mendes (1977), baseado em dosagens de amostras de fígado de mais que 500 bovinos, que analisou para Fe, Cu, Zn, Mn, Co e Mo, concluiu que o nível de certos minerais no gado pode ser determinado satisfatoriamente em amostras de fígado obtidas ou por biopsia ou por abate, próximo ao fim da estação de chuvas, uma vez que esta é a época do ano em que os animais são mais produtivos e seus requerimentos são maiores. A análise de tecido ósseo é indicada em estudos sobre as deficiências de fósforo e cálcio. Análises de sangue, soro e plasma são úteis no diagnóstico de deficiências de Mg, Zn, Cu, P e Ca, mas têm as suas limitações; por exemplo, os teores de fósforo são influenciados por estresse, exercício, hemólise, temperatura e tempo de separação do soro (Dayrell et al. 1973b). Para a determinação de certas deficiências minerais ainda outros materiais provenientes do animal podem ser analisados, como pelos, saliva, urina, fezes.

Como a ocorrência da deficiência mineral no animal está ligada ao *pasto* e este por sua vez depende do *solo*, análises de pastagem e de solo, cobrindo determinadas regiões e finalmente todo o Brasil, têm sido advogadas; já foram realizados alguns levantamentos nesse sentido em determinadas regiões do país. Levantamentos desse tipo, para se chegar a conclusões válidas, precisam de elevados recursos humanos e materiais; e mesmo assim são de execução bastante difícil e os resultados obtidos não são de fácil interpretação.

Em amostras de *pastagens*, os dados encontrados em relação a alguns dos elementos somente têm valor relativo, pois devem ser confrontados com os de outros minerais da mesma amostra, que podem ter interferência na sua assimilação pelo animal. Além disso, em muitas regiões a coleta da amostra representativa de forragem, ou seja, daquilo que os animais ingerem, muitas vezes é impossível. Há ainda a considerar as variações dos teores dos elementos nas amostras da mesma pastagem nas diferentes épocas do ano, variações essas que, relativamente à maioria dos elementos, são bastante grandes (são muito maiores que as do material proveniente do animal). Por isso, as amostras têm de ser coletadas em número elevado e vários minerais têm de ser analisados. Também devem ser levadas em consideração a quantidade do mineral que é assimilável pelo animal, a contaminação das amostras pelo solo e a circunstância de os animais ingerirem alguma quantidade de terra juntamente com a pastagem; no Piauí e no Maranhão, em certas regiões das chapadas, as fezes dos bovinos contêm quantidades muito elevadas de terra, a tal ponto que elas têm aspecto e consistência de cerâmica.

A ingestão de solo, na Nova Zelândia, pode chegar a 600 kg por ano para vacas de leite (Healy 1974). Em

ovinos, Healy & Ludwig (1965) encontraram valores de até 3 lbs (1,5 kg) por semana/animal durante os meses úmidos de inverno, quando os pastos são curtos e lamacentos. Esses mesmos autores acham que valores próximos de 50 lbs (25 kg) por ano podem ocorrer em certas fazendas e sugerem que o solo ingerido pode ser uma fonte importante de microelementos. Conrad (1984) pondera que a ingestão de grandes quantidades de solo pode diminuir a absorção de P.

A interpretação dos resultados das análises do solo torna-se ainda mais difícil, em relação à maioria dos elementos, visto que, além de interferências, deve ser considerado que nem todas as quantidades de um mineral existentes no solo são aproveitáveis pelas plantas, por haver diversos fatores influenciando a sua assimilação, como, por exemplo, o pH do solo e a forma química do elemento no solo.

Deve-se ressaltar, porém, que análises de amostras de pastagem e de solo não são desprovidas de valor, e sim constituem um complemento importante no estudo das deficiências minerais, como tem sido demonstrado pelos trabalhos de Souza et al. (1979, 1980, 1981, 1982, 1986, 1987), Souza e Darsie (1985, 1986), e também de Lopes et al. (1980a,b). Queremos destacar o valor que têm as análises de Na na pastagem e de P no solo (Dayrell et al. 1973a).

Um outro recurso no diagnóstico das deficiências minerais é a *experimentação*. Consiste, basicamente, em administrar a um grupo de animais, mantido em pastagem suspeita de ser carente, o mineral que se suspeita deficiente. Outro grupo de animais deve ficar como testemunha, isto é, sem receber o mineral e mantido no mesmo regime de pastagem. O principal parâmetro para avaliação dos resultados é a variação do peso dos animais durante a experimentação. Também outros parâmetros, como por exemplo o índice de fertilidade, podem ser utilizados (Conrad & Mendes 1965, Grunert & Santiago 1969 e Guimarães & Nascimento 1971).

A experimentação é um excelente meio de diagnóstico no estudo das deficiências minerais. Infelizmente, é um método muito dispendioso, trabalhoso e demorado.

Concluindo, quanto mais dados se tiver, maior segurança se terá no diagnóstico. O procedimento mais certo e seguro no diagnóstico das deficiências minerais é o exame do rebanho, sob o ponto de vista clínico-patológico, complementado por análises químicas de tecido animal e/ou experimentação. Análises de pastagem ou ainda análises de solo sempre constituem apenas um complemento.

Esse procedimento é também importante com relação ao diagnóstico diferencial. Quando se suspeita de uma deficiência mineral, esta nem sempre pode ser confirmada. Queremos dar alguns exemplos:

Sutmöller et al. (1966), estudando na Região Amazônica mortes de evolução superaguda ("morte súbita"), que chamam de "mal-de-cai", concluíram que elas fossem devidas a um distúrbio mineral alimentar, decorrente da carência de sódio e potássio, associado a um desequilíbrio Ca/P/Mg no soro, caracterizado por valores séricos aumentados de magnésio, relativamente altos de fósforo e diminuídos de cálcio. Hoje sabemos que essas "mortes súbitas" nas regiões visitadas por esses autores (Baixo Amazonas, Amapá) são causadas por duas plantas: *Palicourea marcgravia* na "terra firme" e *Arrabidaea bilabiata* na "várzea" (Tokarnia et al. 1979).

Em outra ocasião foi levantada a suspeita de que as "mortes súbitas" que ocorrem na zona da mata em Pernambuco estariam ligadas a uma deficiência de cobre (Cavalcanti 1967, com pessoal), como tem sido descrito na Austrália para a "falling disease" (Underwood 1981). Hoje sabemos que essas mortes que ocorrem na "zona da mata" de Pernambuco também são causadas por uma planta, *Palicourea aeneofusca* (Tokarnia et al. 1983).

Um outro exemplo é o "espichamento" dos bovinos no pantanal de Mato Grosso, doença caracterizada por calcinose; suspeitava-se tratar-se de perturbação no metabolismo de Ca/Mg inerente à composição do solo; hoje sabemos tratar-se de intoxicação por planta calcinogênica, *Solanum malacoxylon* (Döbereiner et al. 1971). Por fim queremos citar a "borrachera" na Venezuela, uma espécie de "falling disease"; de acordo com McDowell et al. (1983); os animais afetados por essa doença têm muito baixos valores de cobre no fígado. Hoje sabemos que a doença é causada pela já mencionada planta tóxica *Arrabidaea bilabiata* (Cortes 1969/71).

III. SITUAÇÃO ATUAL DA INVESTIGAÇÃO SOBRE NUTRIÇÃO MINERAL EM BOVINOS NO BRASIL

Na presente revisão apresentaremos um resumo das pesquisas realizadas no Brasil após 1976, agrupando as deficiências minerais diagnosticadas, mineral por mineral, e em ordem cronológica (Fig. 2); incluímos também doenças relacionadas ou sejam botulismo (Fig. 3), hipocalcemia por oxalatos e os poucos relatos sobre intoxicações por F e Cu.

Dentro do propósito desta revisão, os resultados de dosagens químicas de amostras de pastagem e de solo, realizadas independentemente de estudos em bovinos com possíveis deficiências minerais, são omitidos, pois esses dados por si são de difícil interpretação.

A revisão não inclui os dados sobre a "cara inchada" dos bovinos, para cuja etiologia tem sido sugerido uma deficiência/desequilíbrio mineral (Nunes & Chquilloff 1986, Souza et al. 1986); os estudos a respeito ainda estão em andamento e o problema tem merecido reuniões específicas.

Como a maioria dos dados sobre o assunto desta revisão provém de alguns poucos levantamentos e estudos regionais, envolvendo diversos minerais, fornecemos inicialmente os dados principais desses levantamentos e estudos, a título de uma orientação geral e para evitar repetições. Esses levantamentos são os seguintes:

1) Mendes (1977) e Sousa (1978) fizeram um levantamento das deficiências minerais em gado de corte em 6 fazendas, destinadas a cria, recria e engorda, e localizadas no norte de Mato Grosso (hoje sudoeste do Estado); o primeiro autor realizou as análises em tecido animal (osso, fígado), o segundo em forrageiras e solo; as coletas foram realizadas durante as épocas seca e chuvosa; para fins de amostragem, os animais foram divididos em 5 classes (bois de 2 anos, bois de 4 anos, vacas em lactação, vacas de 10 a 12 anos e animais em más condições), obtendo-se amostras de 7 animais de cada classe em cada uma das 6 fazendas, 2 vezes ao ano (épocas seca e chuvosa), sendo obtidas as amostras de tecido (osso e fígado) através de biopsia, perfazendo ao todo 420 (5x7x6x2) amostras de costela e 420 amostras de fígado; adicionalmente foram obtidas amostras de osso e fígado de outros 72 animais, inicialmente através de biopsia e, logo em seguida, dos mesmos animais sacrificados, sendo metade (36) na época seca e a outra metade na época chuvosa; a amostragem foi feita ao acaso, de animais que estiveram no pasto por período superior a um mês; a alimentação dos animais era constituída exclusivamente de pasto; eram fornecidas em todas as fazendas misturas minerais, porém muitas vezes de maneira inadequada e insufi-

ciente; os dados obtidos pelos dois pesquisadores constam em suas teses de mestrado elaboradas na Flórida sob orientação do Dr. J.H. Conrad (Mendes 1977, Sousa 1978); no Brasil estes dados foram publicados em diversos trabalhos (Mendes et al. 1981, 1982, Souza et al. 1979, 1980, 1981, 1982).

2) Souza & Darsie (1985, 1986) e Souza et al. (1986, 1987) fizeram um levantamento, em moldes semelhantes ao anterior, em 6 regiões (7 fazendas) localizadas na parte nordeste de Roraima; os autores amostraram tecido animal (sangue, osso e fígado), forrageiras e solos nas épocas seca e chuvosa; os animais amostrados foram vacas em lactação e bovinos jovens de 1 a 2 anos de idade, de rebanho de baixo padrão zootécnico, em propriedades onde a suplementação mineral era uma prática ainda incipiente); foram coletadas amostras de fígado de aproximadamente 120 vacas e 120 animais jovens, de sangue de aprox. 150 vacas e 150 animais jovens, e amostras de osso de aprox. 40 vacas e 40 animais jovens; as regiões foram selecionadas, levando-se em conta, entre outros critérios, o histórico de possíveis deficiências minerais; a amostragem dos animais foi feita ao acaso de animais que estiveram no pasto por período superior a 3 meses.

3) Lopes et al. (1980a,b) fizeram um levantamento da microrregião de Mato Grosso de Goiás, GO; estudaram a composição química de amostras de material procedente de bovinos (soro, osso, fígado), de forrageiras e solo, em 5 municípios dessa microrregião, com o objetivo de obter informações sobre o "status" mineral do rebanho regional; em cada um desses municípios foram sorteadas 3 fazendas; em cada fazenda foram escolhidos ao acaso e sacrificados 6 animais, entre vacas em lactação, novilhos(as) e bezerros, perfazendo o total de 90 animais, para a colheita de sangue, osso e fígado; foram retiradas amostras de forrageiras e solo para dosagens de minerais; a colheita das amostras foi efetuada na estação chuvosa de 1976; os animais recebiam suplementação mineral irregularmente.

4) Camargo e colaboradores publicaram em diversos trabalhos os resultados de numerosas análises realizadas na Região Amazônica; a maior parte dessas análises são de amostras de sangue (Ca, P e Cu), forrageiras e solo; são poucas as análises de fígado (Cu, Co, Mn e Zn); por isso os resultados são de difícil interpretação:

a) Em uma publicação (Camargo et al. 1980) são relatados os resultados de estudos de elementos minerais de interesse pecuário em regiões da Amazônia Legal, baseadas em análises de soro sanguíneo, fígado, forrageiras e solo coletados em 20 empresas localizadas em 13 municípios.

b) Em outra publicação (Camargo et al. 1985) são relatados os resultados de estudos de macro e microelementos no soro sanguíneo e fígado de bovinos, nas forrageiras e solos em 13 empresas de 6 regiões da "Polamazônia" (sul do Pará, nordeste de Mato Grosso e Ilha de Marajó).

c) Há os dados apresentados muito resumidamente em Congresso (Camargo et al. 1976) sobre análise de soro sanguíneo, fígado, forrageiras e solos em fazendas no nordeste de Mato Grosso.

d) Finalmente há os dados de 9 regiões da Amazônia apresentados sob forma de quadros no Simpósio Latino-Americano (Fernandes & Camargo 1976).

5) Barros et al. (1981), para esclarecer se com a doença "mal-de-secar" em bovinos estariam relacionadas deficiências de elementos minerais, realizaram análises de tecido animal (soro, fígado), pastagem e solo, durante a época chuvosa, nos municípios de Manaus e Itacoatiara, AM, e de Parintins, PA. Infelizmente, os dados desse estudo foram publicados até agora somente de maneira resumida e sob forma de um Comunicado Técnico. Os pormenores sobre esse estudo encontram-se na parte relativa ao cobalto.

Além desses levantamentos e estudos regionais, há alguns estudos experimentais, também envolvendo diversos minerais e que são os seguintes:

6) Souza et al. (1983), para verificar possíveis deficiências minerais em novilhos nelorados em pastagem de capim-colonião no sudeste de Mato Grosso do Sul (mun. Rio Brilhante), realizaram um estudo experimental de análises de tecido animal, forrageiras e solo. Os pormenores sobre esse estudo encontram-se na parte relativa ao zinco.

7) Sousa et al. (1985), com o objetivo de estudar possíveis efeitos da suplementação mineral sobre o ganho de peso de novilhos nelorados em pastagens de capim-colonião adubadas com fosfatos, no município de Miranda, MS, além de realizar um estudo experimental, amostraram os animais (sangue, osso e fígado), forrageiras e solo. Os pormenores sobre esse estudo encontram-se na parte relativa ao sódio.

Não há necessidade de referir aqui outros levantamentos ou estudos experimentais envolvendo um só mineral (são poucos) – esses dados estão nas partes relativas a cada elemento.

São as seguintes as pesquisas publicadas após 1976 sobre deficiências minerais em bovinos no Brasil, mineral por mineral, e em ordem cronológica (Fig. 2).

Fósforo e Cálcio

Souza et al. (1979), incorporando os dados da tese de Mendes (1977), no levantamento das deficiências minerais em bovinos no norte de Mato Grosso, constataram que as médias de P nos ossos dos animais variaram de 15,1 a 15,5%, evidenciando deficiência de fósforo. Os animais apresentaram níveis mais altos de P durante a época de seca e níveis mais baixos durante a época chuvosa. As análises de P nas forrageiras indicaram que nenhuma delas, com exceção das leguminosas, forneciam níveis adequados de P para um mínimo de produção animal, evidenciando, assim, a deficiência desse mineral nas 6 fazendas. Entre as duas épocas estudadas, houve grande variação dos teores de P nas forrageiras. As médias gerais alcançadas foram de 0,20% na época chuvosa e 0,08% na época seca. Os teores de P nos solos estudados foram considerados entre baixos e médios (2,9 a 27,6 ppm, respectivamente). Os autores concluíram que a suplementação de P para bovinos criados em regime extensivo, com perda de peso na época seca, é mais importante durante a época chuvosa, quando existe quantidade suficiente de energia e proteína e os animais estão ganhando peso ou exercendo qualquer outra função positiva.

Os níveis de Ca nos ossos foram considerados normais em todas as fazendas. Os níveis de Ca nas plantas forrageiras, em geral, eram suficientes para atender as exigências nutricionais dos bovinos, nas duas épocas estudadas. Os níveis de Ca no solo eram altos em 5 fazendas e em apenas uma delas eram médios.

Lopes et al. (1980a), em seu levantamento da microrregião de Mato Grosso de Goiás, GO, verificaram, em relação ao P, que um grande número de animais, principalmente vacas em lactação, apresentou concentrações séricas de P abaixo das consideradas normais. Média e desvio padrão do fósforo sérico (mg%) para vacas em lactação foram $4,46 \pm 0,45$, $4,83 \pm 1,37$, $4,35 \pm 1,24$, $4,32 \pm 0,34$ e $3,92 \pm 0,54$ para cada um dos 5 municípios escolhidos. O teor de cinzas nos ossos variou de 52,74 a 57,50%. O teor de P na cinza óssea variou de 16,00 a 17,27%. Encontraram, ainda, em 24 a 84% das amostras de forrageiras, valores < 0,18% de P na matéria seca. Cerca de 91% das amostras de solo apresentaram teores de P disponível < 10 ppm.

Os teores séricos de Ca e Mg estavam dentro dos limites normais em todos os municípios estudados. O teor de Ca na cinza dos ossos variou de 37,38 a 39,99%.

Os autores concluíram que os baixos teores de P obtidos no soro sanguíneo, nas amostras de cinzas de ossos,

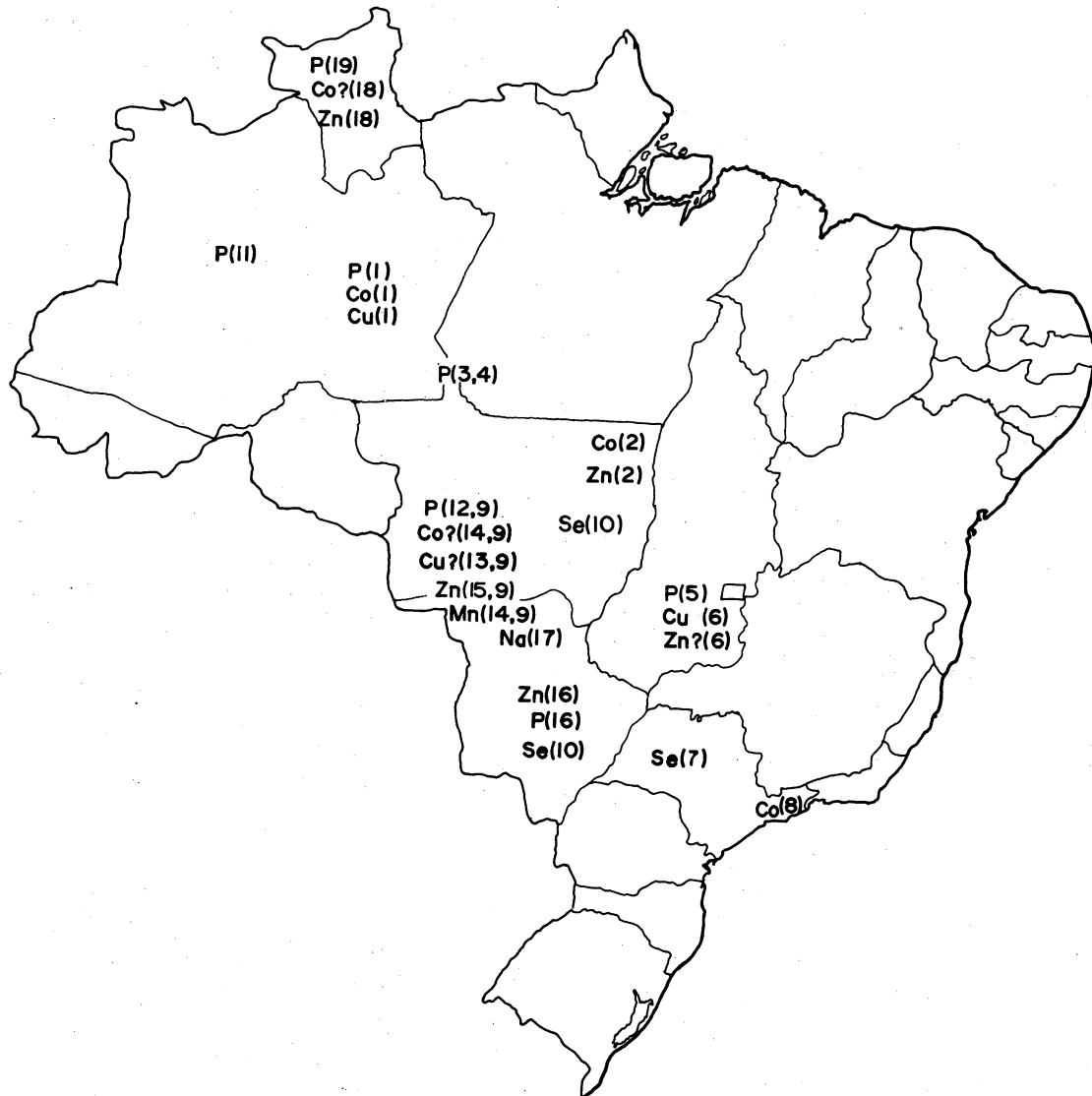


Fig. 2. Deficiências minerais diagnosticadas no Brasil após 1976. Os números em parênteses indicam a fonte da informação obtida da seguinte literatura:

- (1) Barros N.N., Teixeira L.B., Moraes E., Canto A.C. & Italiano E.C. 1981. Teores de minerais no complexo solo-planta-animal de áreas de terras firmes do Amazonas. Comunicado Técnico Nº 16/81, Embrapa-UEPAE de Manaus. 3 p. – (2) Camargo W.V.A., Fernandes N.S. & Santiago A.M.H. 1976. Pesquisa de minerais em bovinos no nordeste de Mato Grosso. Anais XV Congr. Bras. Med. Vet., Rio de Janeiro, p. 194-195. (Resumo) – (3) Camargo W.V.A., Fernandes N.S. & Santiago A.M.H. 1980. Estudos de elementos minerais de interesse pecuário em regiões da Amazônia Legal. Arqs Inst. Biol., S. Paulo, 47(4):83-111. – (4) Camargo W.V.A., Santiago A.M.H., Nazário W. & Chiba S. 1985. Teores de minerais de interesse pecuário em regiões da Polamazônia. Revta Bras. Med. Vet., Rio de J., 7(4):118-124. – (5) Lopes H.O.S., Fichtner S.S., Jardim E.C., Costa C.P. & Martins Junior W. 1980a. Composição mineral de amostras de solo, forragem e tecido animal da micro-região Mato Grosso de Goiás – I. Cálcio, fósforo, magnésio e potássio. Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte, 32(2):161-174. – (6) Lopes H.O.S., Fichtner S.S., Jardim E.C., Costa C.P. & Martins Junior W. 1980b. Teores de cobre e zinco em amostras de solos, forrageiras e tecido animal da micro-região Mato Grosso de Goiás. Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte, 32(2):151-159. – (7) Lucci C.S., Moxon A.L., Zanetti M.A., Schalch E., Pettinati R.L., Fukushima R.S., Franzolin Neto R. & Marcomini D.G. 1983. Selênio em rebanhos leiteiros do Estado de São Paulo. I. Níveis de selênio em soros sanguíneos – nota prévia. Anais da XX Reunião Anual da SBZ, Pelotas, RS, p. 197. – (8) McDowell L.R. 1976. Níveis estacionais de cobre e de cobalto em tecido animal e vegetal. Atualidades Veterinárias, Porto Alegre, 5(28):24-27. – (9) Mendes M.O. 1977. Mineral status of beef cattle in the northern part of Mato Grosso, Brazil, as indicated by age, season, and sampling technique. Dissertation, University of Florida, Gainesville. 236 p. – (10) Moraes S.S. 1986. Untersuchungen zu Abhängigkeiten der Zink-, Mangan- und Selengehalte in Lebern von Rindern aus ausgewählten Regionen Brasiliens. Dissertation, Hannover. 146 p. – (11) Moraes E., Italiano E.C. & Pieniz L.C. 1982. Efeito de níveis de fósforo no crescimento e engorda de bovinos mantidos em pastagem de quicuío da Amazônia. Pesquisa em Andamento Nº 36, Embrapa, UEPAE de Manaus. 4 p. – (12) Souza J.C., Conrad J.H., Blue W.G. & McDowell L.R. 1979. Inter-relações entre minerais no solo, plantas forrageiras e tecido animal. I. Cálcio e fósforo. Pesq. Agropec. Bras. 14(4):387-395. – (13) Souza J.C., Conrad J.H., McDowell L.R., Ammerman C.B. & Blue W.G. 1980. Inter-relações entre minerais no solo, forrageiras e tecido animal. 2. Cobre e molibdênio. Pesq. Agropec. Bras. 15(3):335-341. – (14) Souza J.C., Conrad J.H., Blue W.G., Ammerman C.B. & McDowell L.R. 1981. 3. Manganês, ferro e cobalto. Pesq. Agropec. Bras. 16(5):739-746. – (15) Souza J.C., Conrad J.H., Mott G.O., McDowell L.R., Ammerman C.B. & Blue W.G. 1982. Inter-relações entre minerais no solo, plantas forrageiras e tecido animal no norte de Mato Grosso. 4. Zinco, magnésio, sódio e potássio. Pesq. Agropec. Bras. 17(1):11-20. – (16) Souza J.C., Gomes R.F.C., Rezende A.M., Rosa I.V., Cardoso E.G., Gomes A., Costa F.P., Oliveira A.R., Coelho Neto L. & Curvo J.B.E. 1983. Resposta de novilhos nelorados à suplementação mineral em pastagens de capim-colonião. Pesq. Agropec. Bras. 18(3):311-318. – (17) Souza J.C., Gomes R.F.C., Silva J.M.S. & Euclides V.P.B. 1985. Suplementação mineral de novilhos de corte em pastagens adubadas de capim-colonião. Pesq. Agropec. Bras. 20(2):259-269. – (18) Souza J.C. & Darsie G. 1985. Deficiências minerais em bovinos de Roraima, Brasil. I. Zinco e cobalto. Pesq. Agropec. Bras. 20(11):1309-1316. – (19) Souza J.C., Gonçalves E.M., Viana J.A.C. & Darsie G. 1986. Deficiências minerais em bovinos de Roraima, Brasil. III. Cálcio e fósforo. Pesq. Agropec. Bras. 21(12):1327-1336.

na forragem e no solo caracterizavam uma deficiência de P na região estudada.

Camargo et al. (1980), em seus estudos de elementos minerais de interesse pecuário em 20 empresas da Amazônia Legal, encontraram, em relação ao P, índices abaixo do valor mínimo no soro sanguíneo dos bovinos em 4 empresas, durante a estação chuvosa. Nas forrageiras, em apenas 5% os valores estavam dentro do adequado. No solo, em apenas duas das 20 empresas estudadas os teores de P estavam dentro do mínimo adequado.

Barros et al. (1981), em seu estudo sobre o "mal-de-secar", nos municípios de Manaus e Itacoatiara, AM, e de Parintins, PA, verificaram no soro sanguíneo níveis de cálcio e fósforo baixos, principalmente em relação ao fósforo. Nas pastagens encontraram deficiências acentuadas de P e Ca, considerados os requisitos mínimos para bovinos em crescimento, manutenção e acabamento. Nessas regiões os autores verificaram, concomitantemente, deficiência de Co, e concluíram que o "mal-de-secar" deve estar relacionado com os níveis baixos de Ca e P no soro sanguíneo e de cobalto no fígado.

Pormenores sobre os estudos de Barros et al. (1981) estão na parte relativa a Co.

Moraes et al. (1982), em experimento cujo objetivo foi determinar o nível ótimo de fósforo a ser fornecido em misturas minerais a bovinos em crescimento, mantidos em pastagem de *Brachiaria humidicola* ("quicuío-da-amazônia") no município de Manaus, AM, forneceram misturas minerais com diversos níveis de P, suprimindo os animais em suas necessidades de Na, Zn, Cu, Co e I. Verificaram efeito marcante do fósforo no ganho de peso dos bovinos, comprovando que o P é um dos elementos mais limitantes nos solos e conseqüentemente nas pastagens de terra firme no Estado do Amazonas. A análise econômica mostrou que qualquer dos níveis de P comparados à testemunha (sem P) é vantajoso para o criador, porém que o maior acréscimo na renda bruta ocorreu quando se forneceu o maior nível de fósforo.

Sousa et al. (1983), em seus estudos experimentais e analíticos no município de Rio Brillante, MS, verificaram que os animais do grupo que recebeu suplemento fosfórico tiveram ganho de peso superior ao daqueles que não receberam esse suplemento. As análises de biopsia de costela indicaram níveis deficientes de P. O teor de P no plasma sanguíneo não mostrou deficiência. As forrageiras apresentaram níveis médios deficientes em P, e o solo se mostrou pobre em Ca e P. Mas a deficiência mais importante para a criação de bovinos nessa pastagem foi a de Zn.

Pormenores dos estudos de Sousa et al. (1983) encontram-se na parte relativa a Zn.

Camargo et al. (1985) em seu estudo em 13 empresas na "Polamazônia", verificaram, em relação ao P, às vezes, valores marginais no soro sanguíneo; nas forrageiras e no solo os teores eram baixos. Em relação ao Ca, os níveis sanguíneos eram normais; nas forrageiras os teores de Ca foram considerados suficientes para as necessidades de bovinos de corte, com teores maiores no período de seca.

Sousa et al. (1985), em seus estudos experimentais e analíticos no município de Miranda, MS, encontraram níveis relativamente baixos de Ca, P e percentagem de cin-

za no tecido ósseo, porém normais para P e Ca no plasma sanguíneo, em todos os tratamentos. A deficiência revelada pela experimentação foi só de Na; não houve resposta em ganhos de peso à suplementação com fósforo.

Pormenores sobre os estudos de Sousa et al. (1985) acham-se na parte relativa a Na.

Sousa et al. (1986), em seu levantamento das deficiências minerais em bovinos no nordeste de Roraima, verificaram que os níveis de P plasmático foram baixos em praticamente todas as regiões; apenas em duas poderiam ser considerados normais nos bovinos jovens. As percentagens de cinza nos ossos das vacas foram baixas em 4 regiões, nos bovinos jovens foram deficientes em todas as 6 regiões. Os teores de P na cinza óssea foram deficientes, variando de 9,9 a 14,2% nas vacas em lactação e de 9,2 a 12,7% nos bovinos jovens, sendo, em ambas as categorias, menores durante a época chuvosa. Os níveis de P nas forrageiras foram deficientes em 5 regiões. Os teores de P nos solos foram baixos, variando de 2,1 a 4,3 ppm entre as regiões.

Os níveis de Ca plasmático foram normais em todas as 6 regiões, em ambas as épocas do ano e nas duas categorias de animais estudadas. Os teores de Ca na cinza óssea das vacas apresentaram-se próximos ao limite da deficiência em 3 regiões (35,7%, 36,4% e 36,5%) e deficientes nas outras (30,6%, 31,6% e 33,4%); os teores de Ca na cinza óssea dos bovinos jovens foram deficientes em todas as regiões. No solo e nas forrageiras foi encontrada deficiência de Ca em 5 regiões.

Botulismo Epizootico dos Bovinos. Revisando a deficiência de P, não se pode deixar de mencionar o botulismo. O botulismo epizootico dos bovinos, em conseqüência da osteofagia causada pela deficiência de P, é hoje uma das 3 causas mais importantes de mortandades em bovinos adultos no Brasil (raiva e plantas tóxicas são as outras duas), perdendo-se anualmente muitas dezenas de milhares de cabeças devido a cada uma dessas doenças. O diagnóstico de botulismo epizootico em bovinos pelas toxinas C e D foi estabelecido em nosso país inicialmente no Estado do Piauí (Tokarnia et al. 1970). A doença vinha sendo observada desde 1960 na região de Campo Maior, onde morreram em poucos anos cerca de 15.000 dos originais 100.000 bovinos existentes, e alastrou-se, nos anos seguintes (Fig. 3), ao sul desse Estado, depois ao sul do Maranhão e norte de Goiás (Tokarnia 1970), e mais tarde ao sul de Goiás (Döbereiner 1978/1979). Em seguida, mortandades pelo botulismo foram diagnosticadas na região de Cassilândia, MS (Döbereiner 1979) e em Alegrete, RS, onde foi diagnosticado como responsável por mortes em bovinos nos chamados "campos grossos" (Langenegger et al. 1984). Recentemente, o botulismo foi reconhecido como causa de mortandades de bovinos no norte da Bahia (Tokarnia 1986), em Campo Grande, MS (Döbereiner 1986), em regiões próximas a Brasília, DF (Döbereiner 1987a), e em Marília e ao sul de Ribeirão Preto, SP (Döbereiner 1987b). Há ainda a provável ocorrência de botulismo epizootico em outras regiões do Brasil, como no Território Federal de Roraima (Döbereiner 1975).

Na Bahia, a doença foi atribuída por Portugal (1986) à ingestão de excesso de nitrato nas forrageiras; mas tal afirmação se baseara em erro de cálculo. As forrageiras



Fig. 3. Regiões do Brasil onde foi diagnosticado botulismo epizootico em bovinos. Os números em parênteses indicam a fonte da informação obtida da seguinte literatura:

(1 - 6) Döbereiner J. 1975, 1978/79, 1979, 1986, 1987a, 1987b, Relatórios de viagens (Embrapa - UAPNPSA, Seropédica, RJ). - (7) Langenegger J., Scarsi R., Martins E.S., Azambuja L.L.A., Santa Helena P.A. & Barros C. 1984. "Mal de Alegrete: epidemiologia, clínica e patologia". XIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, p. 208. - (8 - 9) Tokarnia C.H. 1970, 1986. Relatórios de viagens (UFRRJ, Seropédica, RJ). - (10) Tokarnia C.H., Langenegger J., Langenegger C.H. & Carvalho E.V. 1970. Botulismo em bovinos no Piauí, Brasil. *Pesq. Agropec. Bras.* 5:465-472.

não continham 7,75 a 11,08% de nitrato expresso em NaNO_3 , como Portugal afirmara, mas sim 0,000775 a 0,001108%. Portugal transformara os dados analíticos das forrageiras, fornecidos em mg/kg (de nitratos expressos em nitrato de Na), simplesmente em %; na realidade 1

mg/kg = 0,0001%, o que significa uma diferença de 1:10000 (Tokarnia 1986).

Explica-se o aumento das mortandades pelo botulismo, primeiramente, pela ocupação de vastas áreas de cerrado e outras áreas com solos pobres o que só foi possível

após ampla introdução das brachiárias, pastos pouco exigentes que formam muita massa verde mas são deficientes em fósforo, e em segundo lugar pela introdução de bovinos zootecnicamente melhorados e, por isso, mais exigentes em relação ao fósforo.

Intoxicação por Flúor. Na revisão sobre deficiência de P também não se pode deixar de mencionar o flúor. Um dos cuidados que se deve ter na suplementação fosfórica aos bovinos é usar fosfatos com baixo teor desse elemento (a relação F:P não deve passar de 1:100). Teores mais elevados ingeridos durante períodos prolongados provocam intoxicação.

Riet-Correa et al. (1983) descreveram a intoxicação por flúor em bovinos em nosso meio, não devida à suplementação com fosfatos ricos em flúor, mas em consequência da poluição atmosférica que contaminou as pastagens, produzida por fábricas de adubo que processam rocha fosfática, localizadas na cidade de Rio Grande, RS. As lesões dentárias características da intoxicação por flúor, ou seja, a presença de manchas esbranquiçadas com aspecto de giz, pigmentação marrom, hipoplasia do esmalte, desgaste dentário exagerado, foram encontradas em 19 estabelecimentos localizados entre 4,5 e 17,5 km de distância das fábricas de adubo, tendo-se verificado uma função linear do grau das lesões com relação à distância. As lesões ósseas consistiram em osteoporose. Os níveis de flúor de 7 mandíbulas e 3 úmeros de animais pertencentes a 2 estabelecimentos situados entre 5 e 6 km das fábricas variaram entre 1.400 e 5.750 ppm.

Intoxicação por Oxalatos. Também não podemos deixar de mencionar aqui a intoxicação por oxalatos, em que ocorre hipocalcemia e sintomatologia nervosa. Em nosso meio, Schenk et al. (1982) estudaram, no município de Ribas do Rio Pardo, MS, uma doença em vacas lactantes que se caracterizava por andar cambaleante, tetania, diarreia e corrimento nasal. De 85 vacas, 45 adoeceram 10 dias após sua introdução em pastagem de *Setaria anceps* cv. Kazungula. Os níveis de Ca no plasma sanguíneo estavam abaixo dos considerados normais em todos os animais doentes (média 6,7 mg/100 ml). Os teores de oxalatos na pastagem foram bastante altos (em média 6,2%). Os autores ainda informam que se tratava de pasto com rebrota nova e que havia alta disponibilidade de K no solo (140 ppm em média).

Magnésio

Lopes et al. (1980a), no levantamento da microrregião de Mato Grosso de Goiás, GO, verificaram que os níveis de Mg estavam dentro dos limites normais nas amostras de soro sanguíneo e de forragens. Os autores concluíram que o Mg não constituía problema para o rebanho dessa região.

Sousa et al. (1982), no levantamento das deficiências minerais em bovinos no norte de Mato Grosso, constataram que os níveis de Mg no tecido ósseo dos animais, bem como nas forrageiras amostradas, foram normais. Os níveis de Mg nos solos foram baixos em apenas uma fazenda.

Sousa et al. (1987), no seu levantamento das deficiências minerais em bovinos no nordeste de Roraima, verificaram que os níveis de Mg plasmático dos bovinos foram

normais nas duas épocas do ano. Nas cinzas dos ossos (costelas), os teores de Mg foram baixos, variando de 0,32 a 0,44% nas vacas em lactação e de 0,28 a 0,47% nos bovinos jovens. As forrageiras apresentaram teores de Mg adequados para bovinos de corte em crescimento e terminação, porém aparentemente inadequados para vacas em lactação em 5 das 6 regiões estudadas; eles foram significativamente menores ($P < 0,05$) na época seca. Teor médio adequado de Mg no solo foi encontrado apenas em uma das 6 regiões (0,500 meq / 100 g). Todas as outras regiões apresentaram níveis baixos. Os autores concluíram que os baixos níveis ósseos de Mg são indicativos de mineralização inadequada e aumento da reabsorção óssea, mais em função de deficiência de Ca e P, diagnosticada na região pelos autores (Sousa et al. 1986), do que de Mg, principalmente nos bovinos jovens; concluíram que é provável a deficiência subclínica de Mg nas vacas em lactação nas regiões estudadas.

Potássio

Lopes et al. (1980a) verificaram que somente em um dos 5 municípios escolhidos os níveis séricos de K, principalmente em vacas e bezerras, foram inferiores aos níveis considerados como normais; nos demais municípios, os níveis de potássio permaneceram dentro dos valores normais. Os níveis de K das amostras de forrageiras dos 5 municípios escolhidos estiveram acima das necessidades para alimentação do gado. A grande maioria das amostras de solo apresentou níveis adequados de K; apenas em um município 36% das amostras revelaram níveis inadequados (inferiores a 50 ppm) desse elemento. Os autores concluíram que o potássio não parece constituir um problema para o rebanho bovino da microrregião estudada.

Sousa et al. (1982), no levantamento das deficiências minerais em bovinos no norte de Mato Grosso, constataram que as forrageiras apresentaram níveis médios de K adequados às exigências nutricionais dos bovinos em todas as fazendas. Os níveis de K nos solos mostraram-se deficientes em 2 das 6 fazendas estudadas.

Sousa et al. (1987), no levantamento das deficiências minerais em bovinos no nordeste de Roraima, verificaram que os níveis de K nas forrageiras foram deficientes em todas as regiões; eles foram significativamente menores ($P < 0,05$) na época seca. Nível médio de K no solo só foi observado em uma das 6 regiões estudadas, com 65 ppm. Nas demais regiões os níveis de K no solo foram baixos.

Sódio

Sousa et al. (1982), no levantamento das deficiências minerais em bovinos no norte de Mato Grosso, constataram que em todas as fazendas as forrageiras se mostraram altamente deficientes em Na, satisfazendo apenas 14 a 30% das exigências nutricionais dos bovinos. Os níveis de Na nos solos foram considerados normais, e a salinidade das regiões estudadas foi considerada insignificante.

Sousa et al. (1985), com o objetivo de estudar possíveis efeitos da suplementação mineral sobre o ganho de peso de novilhos nelorados em pastagens de capim-colônia adubadas com fosfatos, realizaram um estudo com duração de 814 dias, no município de Miranda, na parte oeste de Mato Grosso do Sul. Foram usados 10 novilhos,

distribuídos nos seguintes tratamentos: A) sem suplementação mineral; B) NaCl; C) NaCl + P; D) NaCl + P + microelementos. Além do controle dos pesos durante o experimento, foram amostrados os animais (sangue, fígado, costela), forrageiras e solo. No plasma sanguíneo foram dosados P, Ca e Mg. No fígado foram determinados os teores de Fe, Cu, Co, Mn, Zn e Mo e no osso Ca, P e Mg e percentagem de cinza. Os tratamentos A, B, C e D apresentaram ganhos médios de peso por animal de 235,6, 278,8, 296,8 e 278,9 kg respectivamente. Nos períodos secos, observou-se perda de peso dos animais em todos os tratamentos, apesar da suplementação mineral. Os autores concluíram 1) que não houve resposta em ganhos de peso dos novilhos à suplementação mineral com fósforo, 2) que houve resposta à suplementação de cloreto de sódio, 3) que não houve resposta à suplementação mineral nos períodos secos, 4) que houve tendência para menor consumo de minerais no período seco, e 5) que as pastagens eram acentuadamente deficientes em sódio. A análise econômica, realizada por Costa et al. (1982) apontou o tratamento B como superior aos demais:

Nesse estudo, Sousa et al. (1985) ainda verificaram, que os níveis de Ca, Mg e P no plasma sanguíneo foram normais; as análises de biópsia de costela indicaram níveis relativamente baixos de Ca, P e percentagem de cinza, em todos os tratamentos; os níveis de microelementos dosados nas amostras de fígado foram normais; as forrageiras apresentaram níveis médios de P, Na e Zn deficientes. As análises de solo mostraram teores baixos de Zn, estando os demais elementos dosados em níveis considerados adequados.

Sousa et al. (1987), no levantamento das deficiências minerais em bovinos no nordeste de Roraima, verificaram que os níveis de Na nas forrageiras foram deficientes em todas as regiões; eles foram significativamente menores ($P < 0,05$) na época seca. Os níveis de Na no solo variaram de 47 a 102 ppm entre regiões, portanto são relativamente altos, havendo possibilidade de toxidez desse elemento para algumas plantas.

Ferro

Sousa et al. (1981), incorporando os dados da tese de Mendes (1977) no levantamento das deficiências minerais em bovinos no norte de Mato Grosso, constataram que no fígado e nas forrageiras o nível de Fe em todas as 6 fazendas foi considerado adequado para bovinos de corte. As análises de solo mostraram níveis ligeiramente baixos em 2 fazendas e, em outras 4, níveis médios adequados.

Sousa & Darsie (1986), no levantamento das deficiências minerais em bovinos no nordeste de Roraima, verificaram que os níveis hepáticos de Fe eram adequados. As forrageiras apresentaram concentrações nutricionalmente adequadas para bovinos de corte. Os níveis de Fe no solo estavam bem acima das concentrações recomendadas para culturas.

Cobalto

McDowell (1976), em levantamento na região do Vale do Paraíba, SP, verificou, através da análise de 32 amostras de fígado na época de seca e de 17 na época de chuva, valores indicando deficiência marginal de cobalto no período de seca (média 0,098 ppm); na época de chuva os

valores foram normais (média 0,160 ppm). Os valores nas amostras de capim foram normais nas duas épocas do ano.

Camargo et al. (1976), em suas pesquisas de minerais em bovinos no nordeste de Mato Grosso, obtiveram em análises de amostras de fígado de bovinos para a região setentrional níveis médios de cobalto no limite do normal (0,10 e 0,11 ppm nas épocas de seca e águas respectivamente), mas na região meridional teores médios de cobalto indicando deficiência, tanto na época de seca como na de águas (0,07 e 0,08 ppm respectivamente). Não informam a quantidade de amostras analisadas.

Fernandes & Camargo (1976), em análises de amostras de fígado em 9 regiões da Amazônia, em 20 amostras analisadas verificaram 9 valores deficientes de cobalto e 4 valores no limite do normal (0,100 ppm). O número de análises é muito pequeno em relação às muitas regiões amostradas e não permite conclusões.

Camargo et al. (1980), em seus estudos de elementos minerais de interesse pecuário em 20 empresas da Amazônia Legal, em relação ao cobalto encontraram, num total de aprox. 100 amostras de fígado (incluídas aprox. 70 amostras analisadas por Mendes 1977), valores indicando deficiência em 5 amostras procedentes de 5 empresas – em 2 delas, localizadas nos municípios de Silves, AM, e Santana do Araguaia, PA, havia histórico clínico de acobaltose; deve-se salientar que as aprox. 70 amostras acima mencionadas eram de uma só fazenda, onde não havia valores baixos de cobalto. Nas outras empresas foram coletadas, em geral, só 1 a 2 amostras; o número das análises referentes a essas empresas é muito pequeno em relação às muitas regiões amostradas e não permite conclusões.

Em relação às forrageiras foram encontrados níveis de cobalto inadequados às necessidades de bovinos em 8 empresas, com predominância de valores mais baixos na época de seca; em 4 delas (incluindo as 2 acima mencionadas, mais duas situadas no município de Chapada dos Guimarães) havia histórico clínico de acobaltose.

Barros et al. (1981), no estudo sobre o "mal-de-secar" nos municípios de Manaus e Itacoatiara, AM, e de Parintins, PA, obtiveram os seguintes resultados: no soro sanguíneo os níveis de cálcio e fósforo foram baixos, principalmente em relação ao fósforo; os teores de cobalto no fígado foram muito baixos, enquanto os de cobre foram moderadamente baixos; os teores de Zn e Mn foram normais. Concluíram que as baixas concentrações de Ca e P no soro sanguíneo e o reduzido teor de Co no fígado dos bovinos tenham relação com a doença denominada "mal-de-secar".

Porém, paralelamente, com base em análises de pastagens, ampliaram a constatação do número de deficiências, pois nestas encontraram teores de Ca, P, Cu, Co e Zn abaixo dos limites considerados normais. Comparando os teores dos elementos minerais encontrados nas pastagens com os requisitos mínimos para bovinos, os autores encontraram deficiências acentuadas de Ca, P e Cu, e moderada de Co para bovinos em crescimento, manutenção e acabamento, bem como para vacas em lactação; verificaram ainda deficiências de Zn e Mg para o caso de vacas em lactação. A conclusão final a que chegaram foi que as pastagens de terra firme dos municípios de Manaus,

Itacoatiara e Parintins, constituídas principalmente de gramíneas, apresentaram teores de Ca, P, Cu, Co e Zn insuficientes para atender as exigências de bovinos em regime de campo.

Sousa et al. (1981), incorporando os dados da tese de Mendes (1977) no levantamento das deficiências minerais em bovinos no norte de Mato Grosso, constataram que os níveis de cobalto no fígado foram adequados. As médias de Co no fígado foram mais baixas na estação chuvosa do que na estação seca. Só em 3 fazendas as forrageiras possuíam quantidades suficientes de cobalto para atender as exigências nutricionais dos animais; nessas mesmas fazendas os solos mostraram teores adequados de Co; as demais fazendas possuíam solos deficientes. Os autores concluíram que o nível normal de cobalto no fígado se devia parcialmente à suplementação de Co na dieta dos animais.

Sousa & Darsie (1985), no levantamento das deficiências minerais em bovinos no nordeste de Roraima, verificaram que as concentrações de cobalto no tecido hepático foram normais em todas as regiões. Nas forrageiras o nível de Co foi adequado em apenas uma região. Individualmente examinadas 8 forrageiras, o cobalto foi deficiente em 4 espécies e adequado às exigências nutricionais dos bovinos em outras 4. Somente uma região apresentou solos deficientes em cobalto. Os autores, nas conclusões recomendam suplementação mineral com cobalto.

Camargo et al. (1985), no estudo em 13 empresas na "Polamazônia", verificaram valores deficientes somente em 1 fígado (na época de chuva, no sul do Pará), de 9 amostras analisadas procedentes de 6 fazendas. Nas forrageiras de 4 entre 13 fazendas, verificaram teores considerados inadequados.

Cobre

McDowell (1976), em levantamento na região do Vale do Paraíba, no Estado de São Paulo, verificou que os valores de cobre no fígado foram normais tanto na época de chuva como na de seca, enquanto no soro, tanto numa época como na outra, eles refletiriam uma deficiência marginal. Os valores de cobre no capim foram normais.

Camargo et al. (1976), em suas pesquisas de minerais em bovinos no nordeste de Mato Grosso, obtiveram, em análises de amostras de fígado de bovinos, tanto para a região setentrional como para a meridional, valores considerados normais. Não informam a quantidade de amostras de fígado analisadas.

Fernandes & Camargo (1976), em análises de amostras de fígado de bovinos em 9 regiões da Amazônia, em 20 amostras analisadas só encontraram 1 valor deficiente para o cobre.

Sousa et al. (1980), incorporando os dados da tese de Mendes (1977) no levantamento das deficiências minerais em bovinos no norte de Mato Grosso, verificaram que o nível de cobre no fígado dos animais foi normal em todas as 6 fazendas. As forrageiras apenas de 2 fazendas possuíam níveis adequados de cobre para bovinos de corte; nas outras 4 fazendas foram encontrados níveis médios deficientes de cobre, sendo que uma delas apresentou valor deficiente de Cu (2,7 ppm) em combinação com níveis tóxicos de Mo (9,2 ppm). No solo, somente em uma fazenda os níveis de cobre se mostraram normais;

as demais fazendas apresentaram níveis considerados baixos. Os autores concluíram que o nível de Cu no fígado dos animais foi normal em todas as fazendas devido ao fornecimento de suplementos minerais. Concluíram também que a suplementação de Cu é mais importante durante o período chuvoso, quando as pastagens oferecem energia e proteína em quantidades suficientes para o desenvolvimento produtivo dos animais.

Os teores de Mo no fígado foram considerados normais. Apenas em uma fazenda esses níveis foram relativamente altos, mas abaixo do nível tóxico. Nas forrageiras os níveis de Mo foram considerados normais, com exceção do acima mencionado em que os níveis médios eram tóxicos. No solo os teores médios de Mo foram considerados relativamente altos.

Lopes et al. (1980b) no levantamento da microrregião de Mato Grosso de Goiás, GO, em relação ao cobre verificaram que os teores médios de Cu no fígado variaram de 129,3 ± 77,4 a 205,9 ± 71,5 ppm. Em 2 municípios, Trindade e Firminópolis, 23 e 41% das amostras de fígado, respectivamente, apresentaram teores de cobre inferiores a 100 ppm. Aproximadamente 30% das amostras de forrageiras analisadas por município apresentaram teores inferiores a 4 ppm de cobre na matéria seca. A grande maioria das amostras de solo apresentou níveis baixos de cobre.

Os autores observam que o fato de a maioria dos resultados das amostras de fígado ter-se apresentado dentro dos limites normais decorre, provavelmente, de um grande número de animais ter recebido suplementação mineral, e que a generalizada deficiência de Cu apresentada pelas amostras de solo e forragem evidencia a necessidade da suplementação de Cu aos animais dessa área.

Camargo et al. (1980), em seus estudos de elementos minerais de interesse pecuário em 20 empresas na Amazônia Legal, encontraram, em relação ao cobre, num total de aprox. 100 amostras de fígado (incluídas aprox. 70 amostras analisadas por Mendes 1977), valores indicando deficiência em 3 amostras procedentes de 2 fazendas; deve-se salientar que as aprox. 70 amostras acima mencionadas eram de uma só fazenda, onde não houve valores baixos de cobre. Na maioria das outras empresas foram coletadas, em geral, só 1 a 2 amostras. O número de análises nessas empresas é muito pequeno em relação às muitas regiões amostradas e não permite conclusões. Em relação às forrageiras, somente em 6 das 20 empresas os autores acharam valores de cobre indicando que supriam o mínimo necessário; nas demais, os valores apontam níveis inadequados, principalmente na época de seca.

As análises das forrageiras, coletadas somente na época de chuva, revelaram baixos teores de Mo.

Barros et al. (1981), no estudo sobre o "mal-de-secar" nos municípios de Manaus e Itacoatiara (AM) e de Parintins (PA), acharam no fígado dos bovinos teores de cobre moderadamente baixos (variações de 26,4 a 225,3 ppm – média 129,0 ppm). Nas pastagens encontraram deficiências acentuadas de cobre, consideradas as necessidades mínimas de bovinos em crescimento, manutenção e acabamento.

Pormenores sobre os estudos de Barros et al. (1981) estão na parte relativa a cobalto.

Camargo et al. (1985), no estudo em 13 empresas na "Polamazônia", verificaram valores hepáticos de cobre

relativamente elevados (9 amostras coletadas em 6 fazendas), porém os valores séricos, em grande parte, eram baixos (sangue coletado em 13 fazendas). Nas forrageiras analisadas de 13 fazendas, os níveis de cobre, em grande parte, eram baixos ou marginais. Os autores citam Mendes (1977), segundo o qual os níveis hepáticos elevados de cobre são conseqüentes a ingestão pelos animais de suplementos minerais.

Intoxicação por Cobre. Em todas as espécies animais, a contínua ingestão de cobre em excesso leva a alguma acumulação nos tecidos, especialmente no fígado. Quando essa acumulação ultrapassa certos níveis, uma liberação catastrófica de altas proporções de cobre hepático pode ocorrer para a corrente sanguínea, com resultante hemólise extensiva e icterícia, seguida de morte. A acumulação de cobre no fígado pode dar-se durante algumas semanas ou meses sem manifestações clínicas, até que ocorra a crise hemolítica final. Há diferenças importantes entre as espécies animais: suínos são altamente tolerantes, bovinos menos tolerantes, enquanto que ovinos são extremamente intolerantes a excesso de cobre. (Underwood 1966, 1981).

Santos & Williams (1966) estabeleceram no Rio Grande do Sul, pela primeira vez no Brasil o diagnóstico de intoxicação por cobre, em ovinos, baseando-se em um conjunto de dados, ou seja, no quadro clínico (tratava-se de doença de evolução aguda com icterícia acentuada e hemoglobinúria), nos achados de necropsia (consistindo em icterícia generalizada, fígado de cor amarela ocre, rins de coloração marrom-escura e urina escura na bexiga) e nos valores de cobre no fígado entre 700 a 1096 ppm.

Mais recentemente, Oliveira et al. (1984) novamente estabeleceram o diagnóstico de intoxicação por cobre em ovinos naquele Estado, baseando-se igualmente nas manifestações clínicas (icterícia e hemoglobinúria e evolução de 3 a 4 dias), nos achados de necropsia (icterícia generalizada, fígado amarelado, rins de coloração escura e hemoglobinúria) e nos teores de cobre no fígado que variaram de 312 a 563 ppm.

Rosa & Gomes (1982), com base no histórico de doença de ovinos adultos, que causou a morte de 15 animais num rebanho de 150 num período de 30 dias, na manifestação da sintomatologia (debilidade geral, incoor-denação motora, mucosas pálidas, decúbito lateral e morte) cerca de 3 meses após o início da ingestão de mistura mineral rica em cobre, nos achados de necropsia de um animal (mucosas e órgãos cavitários descolorados, intensa coloração amarela da gordura abdominal, edema gelatinoso das partes baixas, fígado pálido com aspecto de noz-moscada em sua superfície e ao corte, rins de coloração cinza-metálica), no nível de cobre hepático desse animal (584 ppm de cobre na matéria seca) e na cessação da mortalidade após a troca da mistura mineral, estabeleceram um diagnóstico presuntivo de intoxicação crônica pelo cobre em excesso na mistura mineral.

Zinco

Galvão et al. (1973) realizaram experimento sobre o efeito da suplementação de Zn na dieta de vacas em lactação no município de Vespasiano, zona metalúrgica de Minas Gerais. Administraram a 12 vacas, subdivididas em

3 tratamentos (A, B e C) durante 42 dias, níveis de 34, 80 e 127 ppm de Zn na matéria seca, respectivamente, sob a forma de ZnO. As análises estatísticas revelaram que não houve diferenças significativas entre tratamentos, nas produções de leite e gordura do mesmo. As variações em peso dos animais experimentais foram mínimas e também não significativas.

Camargo et al. (1976), em pesquisas de minerais em bovinos no nordeste de Mato Grosso, obtiveram, em análises de fígado de bovinos na região setentrional, valores de Zn um pouco abaixo do normal (95 e 94 ppm nas épocas de seca e de águas respectivamente), e na região meridional valores normais. Não informam a quantidade de amostras analisadas.

Fernandes & Camargo (1976), em análises de amostras de fígado de bovinos em 9 regiões da Amazônia, em 20 amostras analisadas verificaram 7 valores deficientes de Zn e 2 no limite do normal (100 ppm). O número de análises é muito pequeno em relação às muitas regiões amostradas e não permite conclusões.

Lopes et al. (1980b), no levantamento da micror-região de Mato Grosso de Goiás, GO, verificaram que os teores médios de Zn no fígado variaram de $139,2 \pm 48$ a $166,4 \pm 57,9$ ppm. Dezoito a 25 das amostras de forrageiras analisadas em cada município apresentaram teores inferiores a 10 ppm de Zn na matéria seca. A grande maioria das amostras de solo apresentou níveis baixos de Zn. Os autores observam que o fato de a grande maioria das amostras de fígado terem apresentado níveis normais de Zn decorre do fato de grande quantidade de animais ter recebido suplementação mineral. Concluíram que a deficiência generalizada de Zn apresentada pelas amostras de solo e de plantas configura a necessidade de suplementação de Zn aos animais da região estudada.

Camargo et al. (1980), em seus estudos de elementos minerais de interesse pecuário em 20 empresas na Amazônia Legal, em relação ao Zn encontraram, num total de aprox. 100 amostras de fígado (incluídos aprox. 70 amostras analisadas por Mendes 1977), valores indicando deficiência, em 79 amostras procedentes de 7 empresas; deve-se salientar que 70 dessas amostras eram de uma só fazenda, no município de Nortelândia, MT (são as 70 amostras acima mencionadas, nas quais a média dos valores indica deficiência de Zn). Na maioria das outras empresas foram coletadas, em geral, só 1 e 2 amostras; o número de análises nessas empresas é muito pequeno em relação às muitas regiões amostradas e não permite conclusões. Em relação às forrageiras, foram encontrados valores deficientes de Zn em quase todas as empresas, tendo sido suficientes na época de chuva somente em 2 e na época de seca em 7 propriedades.

Barros et al. (1981), no estudo sobre a doença "mal-de-secar" nos municípios de Manaus e Itacoatiara, AM, e de Parintins, PA, acharam no fígado teores de Zn normais. Nas pastagens encontraram deficiência de Zn, considerando as necessidades mínimas para vacas em lactação.

Pormenores sobre os estudos de Barros et al. (1981) encontram-se na parte relativa a Co.

Sousa et al. (1982), incorporando os dados da tese de Mendes (1977) no levantamento das deficiências minerais em bovinos no norte de Mato Grosso, constataram que os níveis de Zn no fígado dos animais foram deficientes em

todas as 6 fazendas, sendo muito mais deficientes no período chuvoso (68 ppm) do que no período seco (113 ppm). Cinco das fazendas apresentaram deficiências de Zn nas forrageiras. Foram constatadas deficiências de Zn no solo em 3 das fazendas estudadas.

Sousa et al. (1983), para verificar possíveis deficiências minerais em novilhos nelorados em pastagem de capim-colonião no sudeste do Estado de Mato Grosso do Sul (mun. Rio Brilhante), fizeram um estudo com duração de 336 dias. Na parte experimental foram usados 200 novilhos distribuídos nos seguintes tratamentos: A) NaCl + P + microelementos (Zn, Cu, Co, I, S); B) mistura comercial (Ca, P, Fe, Cu, Mn, I, Zn, Ni, Mg, Na e Cl); C) NaCl + P; e D) NaCl. Os animais dos tratamentos C e D começaram a emagrecer logo após o início do experimento e, com o passar dos meses, vários deles apresentaram magreza, diarreia e pêlo áspero, morrendo após período de tempo variável. Nos tratamentos A e B não houve animais que mostrassem os sinais clínicos descritos para os lotes C e D. Os tratamentos apresentaram ganhos médios de peso, por animal, de 143,8, 129,9, 67,7 e 39,8 kg para os tratamentos A, B, C e D respectivamente. Dessa maneira, a suplementação fósforica foi vantajosa, mas os maiores ganhos de peso foram obtidos pela suplementação adicional de microelementos.

Paralelamente à experimentação foram feitas análises de tecido animal (no plasma sanguíneo foram analisados P e Mg; no osso, Ca, P e Mg; e no fígado, Fe, Cu, Co, Mn, Zn e Mo), de forrageiras e de solo. O zinco foi o único microelemento, no fígado, cujos níveis estavam abaixo do padrão mínimo. As análises de biópsia de osso (costela) indicaram níveis deficientes de P, contudo o P no plasma não mostrou deficiência nos animais do tratamento D (que receberam apenas NaCl). As forrageiras apresentaram níveis médios deficientes de P, Zn, Cu e Co. O solo se mostrou pobre em Ca, P, Mg, Zn, Cu e Co. Dessa maneira, P e Zn foram os únicos minerais deficientes no tecido animal, nas forrageiras e no solo, confirmando os resultados da experimentação em relação à deficiência de P e especificando, através de análise do fígado, Zn como o único microelemento responsável pelo resultado vantajoso dos tratamentos A e B (inclusão de microelementos).

Sousa & Darsie (1985), no levantamento das deficiências minerais em bovinos no nordeste de Roraima, verificaram que os níveis de Zn no fígado dos animais foram baixos em todas as regiões; essas deficiências eram mais pronunciadas no período chuvoso. As forrageiras eram deficientes em Zn, em todas as regiões estudadas. Nos solos os níveis de Zn estavam acima das concentrações consideradas deficientes.

Camargo et al. (1985), no estudo em 13 empresas na "Polamazônia", verificaram valores hepáticos de Zn baixos, somente em uma fazenda, no sul do Pará, na época de seca, e nível elevado em outra, na Ilha de Marajó (ao todo, 9 amostras analisadas em 6 fazendas). Em 4 dessas empresas encontraram-se valores deficitários de Zn nas forrageiras.

Manganês

Camargo et al. (1976), em suas pesquisas de minerais em bovinos no nordeste de Mato Grosso, obtiveram em análises de fígado de bovinos para a região setentrional e

meridional valores normais, tanto para a época de seca como das águas. Não informam sobre a quantidade de amostras analisadas.

Fernandes & Camargo (1976), em análises de amostras de fígado de bovinos em 9 regiões da Amazônia, encontraram valores normais em todas as 20 amostras examinadas.

Camargo et al. (1980), em seus estudos de elementos minerais de interesse pecuário em 20 empresas na Amazônia Legal, em relação ao Mn encontraram, num total de aprox. 100 amostras de fígado (incluindo aprox. 70 amostras analisadas por Mendes 1977), valores indicando deficiência em 77 amostras procedentes de 5 empresas; deve ser salientado que 70 amostras eram de uma só fazenda, no município de Nortelândia, MT (são as aprox. 70 amostras acima mencionadas, nas quais a média dos valores indica deficiência de Mn). Na maioria das outras empresas foram coletadas, em geral, só 1 a 2 amostras; o número de análises nessas empresas é muito pequeno em relação às muitas regiões amostradas e não permite conclusões. Em relação às forrageiras houve diferença grande em seu teor médio entre as épocas de águas e de seca. Na época de águas, em 6 empresas, os valores não alcançaram nível adequado, enquanto que na seca todos ultrapassaram esse nível.

Barros et al. (1981), em estudo sobre o "mal-de-secar" nos municípios de Manaus e Itacoatiara, AM, e Parintins, PA, encontraram no fígado teores de Mn normais. Nas forrageiras, os teores de Mn foram adequados às exigências nutricionais de bovinos.

Pormenores sobre os estudos de Barros et al. (1981) estão na parte relativa a Co.

Sousa et al. (1981), incorporando os dados da tese de Mendes (1977), no levantamento das deficiências minerais em bovinos no norte de Mato Grosso, constataram que os níveis de Mn no fígado dos bovinos foram deficientes em 5 das fazendas estudadas, e que na estação chuvosa a deficiência era mais generalizada do que no período da seca. Nas forrageiras, os níveis de Mn eram suficientes para atender às exigências dos bovinos em todas as 6 fazendas, nas 2 épocas estudadas. No solo, os níveis de Mn em 2 fazendas eram baixos, nas outras eram adequados. Os autores concluíram que os valores deficientes em Mn no fígado se deviam às altas concentrações de ferro nas forrageiras e à elevada suplementação mineral com cobalto, o que provoca efeitos tóxicos na absorção e utilização de Mn. Os autores recomendam a suplementação com Mn em todas as fazendas, principalmente na estação chuvosa.

Sousa & Darsie (1986), no levantamento das deficiências minerais em bovinos no nordeste de Roraima, verificaram que as concentrações de Mn no fígado dos bovinos foram normais. As forrageiras apresentaram concentrações nutricionalmente adequadas para bovinos de corte. Embora os solos de algumas regiões tenham apresentado níveis de Mn relativamente baixos para culturas, produzindo forrageiras com níveis adequados para ruminantes.

Camargo et al. (1985), no estudo em 13 empresas na "Polamazônia", verificaram valores hepáticos baixos para Mn em uma amostra coletada na época de seca (sul do Pará) e em outra, na época de chuvas (Ilha de Marajó) entre 9 amostras coletadas em 6 empresas. Nas forragei-

ras, amostradas nas 13 empresas, o Mn mostrou níveis suficientes para as necessidades de gado de corte.

Selênio

Lucci et al. (1983) obtiveram níveis de Se inferiores a 0,040 ppm em 75% das amostras de sangue de 974 vacas de leite de 80 municípios no Estado de São Paulo. Não são fornecidos dados clínico-patológicos sobre uma eventual deficiência de selênio, mas os autores lembram que dados da Universidade de Ohio mostram incidência elevada de retenção de placenta com valores séricos de selênio inferiores a 0,040 ppm.

Moraes (1986), em sua tese, dá a conhecer os resultados de análises de Mn, Zn e Se em 111 amostras de fígado coletadas em fazendas em 8 regiões do Brasil, isto é nos Estados do Rio de Janeiro, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Rondônia, Amazonas e Rio Grande do Sul, Território Federal de Roraima e no Nordeste, parcialmente de bovinos em que se suspeitava de deficiência mineral, parcialmente de animais sadios ou de animais que sucumbiram de doenças não relacionadas com deficiências minerais ou ainda de bovinos que serviram em experimentos com plantas tóxicas. No Estado de Mato Grosso, 20% das 35 amostras tiveram valores baixos de Se (abaixo de 0,1 ppm) e no Estado de Mato Grosso do Sul, 41,2% das 17 amostras tiveram valores abaixo de 0,1 ppm. Os teores de Zn e Mn estavam, na maioria das amostras, no âmbito dos valores normais. A tese se ocupa principalmente com a parte analítica desses elementos. O devido correlacionamento dos dados analíticos com a saúde dos rebanhos ainda será elaborado, segundo a autora.

IV. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Confirmou-se o que tinha sido visto até 1976, isto é, que a deficiência de fósforo é a deficiência mineral mais importante em bovinos no Brasil. Viu-se pelos trabalhos mais recentes, que, quando se usam análises químicas de tecidos animais para o diagnóstico dessa deficiência, essas análises devem ser feitas de preferência em tecido ósseo (Mendes 1977, Sousa et al. 1979, 1983, 1985, 1986, Lopes et al. 1980a). Em duas ocasiões o diagnóstico de deficiência de fósforo foi estabelecido através da experimentação, nos municípios de Manaus, AM (Moraes et al. 1982), e de Rio Brillhante, MS (Sousa et al. 1983). Análises de pastagem e sobretudo do solo contribuem bastante para o estabelecimento do diagnóstico da deficiência deste elemento (Dayrell 1973a, Sousa et al. 1979, 1986, Lopes et al. 1980a).

Botulismo epizootico, em conseqüência da osteofagia causada pela deficiência de P, tem sido diagnosticado em muitas outras regiões além daquelas em que foi observado inicialmente e que foram o Piauí (Tokarnia et al. 1970), sul do Maranhão e norte de Goiás (Tokarnia 1970). Tem sido diagnosticado adicionalmente no sul de Goiás (Döbereiner 1978/79) e próximo de Brasília (Döbereiner 1987a), no Estado de Mato Grosso do Sul em Cassilândia (Döbereiner 1979) e Campo Grande (Döbereiner 1986), no Estado do Rio Grande do Sul em Alegrete (Langenegger et al. 1984), no nordeste da Bahia (Tokarnia 1986) e no Estado de São Paulo na região de Marília e ao sul de Ribeirão Preto (Döbereiner 1978b). Há dados que indicam que o botulismo epizootico ocorre

ainda em outras regiões do Brasil, como no Território de Roraima (Döbereiner 1975).

Foi diagnosticada intoxicação por flúor no Rio Grande do Sul, mas não devido à suplementação com fosfatos, e sim devido à poluição e contaminação dos pastos por fábricas de adubos que processam rocha fosfática (Riet-Correa et al. 1983).

Hipocalcemia devida à ingestão de pastagem de *Setaria anceps* cv. Kazungula, rico em oxalato, foi diagnosticada em Mato Grosso do Sul (Schenk et al. 1982).

Em relação às deficiências de cobre e cobalto que, de acordo com os estudos realizados até 1976, eram, depois da deficiência de fósforo, as mais comuns no Brasil, nossos conhecimentos também foram confirmados e ampliados. O diagnóstico de deficiência de cobalto, baseado em determinações do elemento no fígado, foi estabelecido adicionalmente nas regiões de Manaus e Itacoatiara, AM, e de Parintins, PA, por Barros et al. (1981), no nordeste de Mato Grosso por Camargo et al. (1976) e Fernandes & Camargo (1976), e no vale do Paraíba, no Estado de São Paulo, por McDowell (1976). Diagnósticos de deficiências de cobre, baseados em análises de fígado, foram adicionalmente estabelecidos somente no sul de Goiás, por Lopes et al. (1980), e na região de Manaus e Itacoatiara, AM, e de Parintins, PA, por Barros et al. (1981). Em outros estudos, o diagnóstico de deficiências nesses elementos (Co e Cu) tem sido prejudicado pela ampla suplementação dos rebanhos com sais de cobalto e cobre, isto é, nos estudos na região norte de Mato Grosso em relação ao cobalto e cobre (Mendes 1977, Sousa et al. 1981, 1980) e no Amapá em relação ao cobalto (Sousa & Darsie 1985).

Em relação ao molibidênio, dosado no fígado, os valores foram considerados normais nos estudos no norte de Mato Grosso (Mendes 1977, Sousa et al. 1980). Camargo et al. (1980) acharam valores baixos de Mo nas forrageiras (não dosaram esse elemento em amostras de fígado).

Por outro lado, a intoxicação por cobre foi diagnosticada duas vezes, em ovinos, no Rio Grande do Sul (Santos & Williams 1966, Oliveira et al. 1984).

Em relação à deficiência de iodo, que nos estudos realizados até 1976 era de ocorrência limitada à poucas áreas, não houve acréscimos.

Pela primeira vez foi confirmada, com dados concretos – através da experimentação em bovinos em uma fazenda no município de Miranda, MS (Sousa et al. 1985) – a deficiência de sódio, que se suspeita ser de ocorrência muito comum no Brasil.

Também pela primeira vez foi diagnosticada a deficiência de zinco, com base na análise do elemento no fígado, no norte de Mato Grosso (Mendes 1977, Sousa et al. 1982), no nordeste de Mato Grosso (Camargo & Fernandes 1976, Fernandes & Camargo 1976) e em Roraima (Sousa & Darsie 1985); com base na experimentação, aliada à análises de amostras de fígado, foi estabelecido o diagnóstico de deficiência de zinco em bovinos numa fazenda no município de Rio Brillhante, MS (Sousa et al. 1983). Dessa maneira, a deficiência de zinco não parece ser tão rara no Brasil, como se supunha.

Num estudo o diagnóstico da deficiência de Zn ficou prejudicado pela suplementação mineral aos animais, ou seja, no estudo na microrregião de Mato Grosso de Goiás, GO (Lopes et al. 1980b).

Deficiência de manganês foi diagnosticada, com base em análises do mineral no fígado, no norte de Mato Grosso (Mendes 1977, Sousa et al. 1981). Sousa et al. (1981) concluem que os valores deficientes de Mn no fígado se devem às altas concentrações de ferro nas forrageiras e à elevada suplementação mineral com cobalto, o que provoca problemas na absorção e utilização do Mn.

Pela primeira vez no Brasil foram obtidos valores baixos de selênio, em análises de fígado, em Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, por Moraes (1986). Em São Paulo, anteriormente, Lucci et al. (1983) obtiveram, de 75% das vacas leiteiras que examinaram, níveis inferiores a 0,040 ppm de Se no soro sanguíneo e especulam que esses valores podem ter influência sobre a incidência de retenção de placenta.

V. PERSPECTIVAS DA INVESTIGAÇÃO SOBRE NUTRIÇÃO MINERAL EM BOVINOS NO BRASIL

Nesses últimos anos, aprendemos muito em relação à metodologia na investigação das deficiências minerais em bovinos, isto é, sobre o diagnóstico das deficiências minerais. Vimos como trabalhos de diagnóstico podem e devem ser conduzidos.

Se até 1976 predominavam no Brasil trabalhos realizados sob a perspectiva do patologista e estudavam-se principalmente doenças de etiologia obscura possivelmente causadas por deficiências minerais, nos últimos anos a grande maioria dos estudos foi realizada sob a perspectiva do nutricionista.

Convém lembrar aqui que as deficiências minerais podem ocorrer sob diversos graus, desde deficiências severas, com perturbações mais ou menos características, a deficiências leves com sintomas não específicos, como desenvolvimento lento, baixa fertilidade, baixo rendimento da carcaça e baixa produção leiteira. Como as deficiências minerais estão ligadas a certas áreas, quando são acentuadas, podem ser responsáveis pela pobreza geral que existe em determinadas regiões. Deficiências menos severas e até leves causam também prejuízos econômicos sérios, porque reduzem a produtividade dos animais e constituem um obstáculo à melhoria dos rebanhos; estas últimas causam, olhando o Brasil como um todo, prejuízos econômicos maiores ao país porque ocorrem em regiões muito extensas.

Queremos salientar, que tanto nos estudos das deficiências com manifestações clínico-patológicas mais características, como nas perturbações menos típicas, para que se chegue a conclusões as mais certas e para que se tire o maior proveito de uma pesquisa tão trabalhosa e cara, deve-se procurar examinar problemas de deficiências minerais do maior número possível de ângulos: animal-planta-solo, dando ênfase ao animal; quanto mais próximo ao animal (exame do rebanho, análises, experimentação), menores serão os riscos de erros na interpretação dos dados. Isto é especialmente válido no Brasil, onde a profilaxia é quase toda feita pela suplementação dos minerais deficientes ao animal. Em países onde se pode pensar em correção do problema pela adubação, certamente análises de forrageiras e solo têm mais valor que entre nós. Devido à suplementação mineral crescente e indiscriminada, cada vez mais será preciso recorrer à experimentação – que é o meio de diagnóstico mais árduo

– mas que, em compensação, permite conclusões mais seguras e corretas.

A determinação de problemas relativos às deficiências minerais no Brasil é bastante exequível, desde que seja observado o raciocínio acima exposto.

REFERÊNCIAS

- Barros N.N., Teixeira L.B., Moraes E., Canto A.C. & Italiano E.C. 1981. Teores de minerais no complexo solo-planta-animal de áreas de terras firmes do Amazonas. Comunicado Técnico Nº 16/81, Embrapa-UEPAE de Manaus. 3 p.
- Boyazoglu P.A., Barrett E.L., Young E. & Ebedes H. 1972. Liver mineral analysis as indicator of nutritional adequacy. Proceedings of 2nd World Conference of Animal Nutrition, Madrid, Spain, p. 995-1008.
- Camargo W.V.A., Fernandes N.S. & Santiago A.M.H. 1976. Pesquisa de minerais em bovinos no nordeste de Mato Grosso. Anais XV Congr. Bras. Med. Vet., Rio de Janeiro, p. 194-195. (Resumo)
- Camargo W.V.A., Fernandes N.S. & Santiago A.M.H. 1980. Estudos de elementos minerais de interesse pecuário em regiões da Amazônia Legal. Arqs Inst. Biol., S. Paulo 47(4):83-111.
- Camargo W.V.A., Santiago A.M.H., Nazário W. & Chiba S. 1985. Teores de minerais de interesse pecuário em regiões da Polamazônia. Revta Bras. Med. Vet., Rio de J., 7(4):118-124.
- Cavalcanti I. 1967. Comunicação pessoal (Min. Agric., Dois Irmãos, Recife, PE).
- Conrad J.H. 1984. Administração racional de suplementos minerais a nível de fazenda. I Simpósio sobre Nutrição Mineral, São Paulo, p. 57-67.
- Conrad J.H. & Mendes M.O. 1965. Estudo comparativo do uso de suplementos minerais e fonte de proteína sobre a porcentagem de nascimento de bezerras. Relatório do Escritório Técnico de Agricultura Brasil-Estados Unidos, Rio de Janeiro. (Citado por Conrad et al. 1984)
- Cortes P.R. 1969/71. Una etiologia de la borrachera del llano. Revta Ganagrínco, Venezuela, 4(nº 18), 5(nºs 19, 20, 21, 22), 6(nºs 23, 24), num total de 37 páginas, em sequência descontínua.
- Costa F.P., Sousa J.C., Gomes R.F.C., Silva J.M. & Euclides V.P.B. 1982. Avaliação econômica de alternativas de suplementação mineral. Pesq. Agropec. Bras. 17(7): 1083-1088.
- Dämmrich K. 1986. Comunicação pessoal (Freie Universität Berlin).
- Dayrell M.S., Döbereiner J. & Tokarnia C.H. 1973a. Deficiência de fósforo em bovinos na região de Brasília. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet., 8:105-114.
- Dayrell M.S., Lopes H.O.S., Sampaio I.B.M. & Döbereiner J. 1973b. Fatores a serem considerados na interpretação de valores analíticos de fósforo inorgânico no soro sanguíneo de bovinos. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet., 8:43-47.
- Döbereiner J. 1975, 1978/79, 1979, 1986, 1987a, 1987b. Relatórios de viagens (Embrapa-UAPNPSA, Seropédica, RJ).
- Döbereiner J., Tokarnia C.H., Costa J.B.D., Campos J.L.E. & Dayrell M.S. 1971. "Espichamento", intoxicação de bovinos por *Solanum malacoxylon*, no pantanal de Mato Grosso. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet., 6:91-117.
- Fernandes N.S., & Camargo W.V.A. 1976. Projetos de pesquisa de minerais em ruminantes em projetos agropecuários da região da Amazônia. In: Simpósio Latino-Americano sobre Pesquisa em Nutrição Mineral de Ruminantes em Pastagens, Belo Horizonte, Minas Gerais, p. 309-324.
- Galvão F.E., Mello R.P. & Silva R.M. 1973. Efeito da suplementação de zinco à dieta de vacas em lactação. Arqs Esc. Vet. Univ. Fed. Minas Gerais 25(3):235-241.
- Grunert E. & Santiago C. 1969. Über den Einfluss von Knochenfuttermehl auf die Fruchtbarkeit von Fleischrindern in Rio Grande do Sul, Brasilien. Zuchthyg. 4:65-71.
- Guimarães J.M.A.B. & Nascimento C.N.B. 1971. Efeito da suplementação mineral sobre a porcentagem de nascimento de bezerras em rebanhos de bovinos de corte na Ilha de Marajó. Série: Estudos sobre Bovinos, IPEAN, Belém, Pará, Vol. 1(Nº 2), p. 37-51.
- Healy W.B. 1974. Ingested soil as a source of elements to grazing animals, p. 448-450. In: Trace Element Metabolism in Animals – 2, University Park Press, Baltimore. (Citado por Conrad et al. 1984).
- Healy W.B. & Ludwig T.G. 1965. Ingestion of soil by sheep in New Zealand in relation to wear of teeth. Nature 208(5012):806-807.
- Langeregger J., Scarsi R., Martins E.S., Azambuja L.L.A., Santa Helena

- P.A. & Barros C. 1984. "Mal de Alegrete: epidemiologia, clínica e patologia." XIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, p. 208.
- Lopes H.O.S., Fichtner S.S., Jardim E.C., Costa C.P. & Martins Junior W. 1980a. Composição mineral de amostras de solo, forragem e tecido animal da micro-região Mato Grosso de Goiás - I. Cálcio, fósforo, magnésio e potássio. Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte, 32(2):161-174.
- Lopes H.O.S., Fichtner S.S., Jardim E.C., Costa C.P. & Martins Junior W. 1980b. Teores de cobre e zinco em amostras de solos, forrageiras e tecido animal da micro-região Mato Grosso de Goiás. Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte, 32(2):151-159.
- Lucci C.S., Moxon A.L., Zanetti M.A., Schalch E., Pettinati R.L., Fukushima R.S., Franzolin Neto R. & Marcomini D.G. 1983. Selênio em rebanhos leiteiros do Estado de São Paulo. I. Níveis de selênio em soros sanguíneos - nota prévia. Anais da XX Reunião Anual da SBZ, Pelotas, RS, p. 197.
- McDowell L.R. 1976. Níveis estacionais de cobre e de cobalto em tecido animal e vegetal. Atualidades Veterinárias, Porto Alegre, 5(28):24-27.
- McDowell L.R., Conrad J.H., Ellis G.L. & Loosli J.K. 1983. Minerals for Grazing Ruminants in Tropical Regions. University of Florida, Gainesville, 86 p.
- Mendes M.O. 1977. Mineral status of beef cattle in the northern part of Mato Grosso, Brazil, as indicated by age, season, and sampling technique. Dissertation, University of Florida, Gainesville. 236 p.
- Mendes M.O., Conrad J.H. & Ammerman C.B. 1981. Teores de minerais em bovinos de corte do Estado de Mato Grosso. Revta Bras. Med. Vet. 4(3):25-30.
- Mendes M.O., Conrad J.H., Houser R.H. & McDowell L.R. 1982. Viabilidade técnica de biopsia de fígado na determinação dos teores de certos minerais em bovinos. Arqs Univ. Fed. Rur. Rio de J. 5(1)55-60.
- Miller W.J. & Stake P.E. 1974. Uses and limitations of biochemical measurements in diagnosing mineral deficiencies. Proceedings Nutrition Conference for the Feed Industry, Atlanta, Georgia, p. 25-43.
- Moraes S.S. 1986. Untersuchungen zu Abhängigkeiten der Zink-, Mangan- und Selengehalte in Lebern von Rindern aus ausgewählten Regionen Brasiliens. Dissertation, Hannover. 146 p.
- Moraes E., Italiano E.C. & Pieniz L.C. 1982. Efeito de níveis de fósforo no crescimento e engorda de bovinos mantidos em pastagem de quicuí da Amazônia. Pesquisa em Andamento nº 36, Embrapa-UEPAE de Manaus. 4 p.
- Nunes V.A. & Chquiloff M.A.G. 1986. Doença periodontal ou "cara inchada" do bovino. Cad. Téc. Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte, 1:3-8.
- Oliveira J.A., Giesta S.M., Schild A.L., Riet-Correa F. & Mendez M.C. 1984. Intoxicação de cobre em ovinos no Rio Grande do Sul. XIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Belém, Pará, p.326. (Resumo)
- Portugal M.A.S.C. 1985/1986. Documentos do Instituto Biológico da Bahia, Salvador.
- Riet-Correa F., Oliveira J.A., Méndez M.C. & Schild A.L. 1983. Poluição industrial como causa de intoxicação por flúor em bovinos no município de Rio Grande, RS. Pesq. Vet. Bras. 3(4):107-114.
- Rosa I.V. & Gomes R.F. 1982. Intoxicação crônica por cobre em ovinos. Comunicado Técnico nº 14/82, Embrapa-CNPGC, Campo Grande, MS. 3 p.
- Santos A.G. & Williams B.M. 1966. Sobre casos de envenenamento crônico por cobre em ovinos. Arqs Inst. Pesq. Vet. Desidério Finamor, Porto Alegre, 3:41-44.
- Schenk M.A.M., Faria Filho T.T., Pimentel D.M. & Thiago L.R.L.S. 1982. Intoxicação por oxalatos em vacas lactantes em pastagem de Setaria. Pesq. Agropec. Bras. 17(9):1403-1407.
- Sousa J.C. 1978. Interrelationships among mineral levels in soil, forage, and animal tissues on ranches in northern Mato Grosso, Brazil. Dissertation, University of Florida, Gainesville. 277 p.
- Sousa J.C., Conrad J.H., Blue W.G., & McDowell L.R. 1979. Inter-relações entre minerais no solo, plantas forrageiras e tecido animal. 1. Cálcio e fósforo. Pesq. Agropec. Bras. 14(4):387-395.
- Sousa J.C., Conrad J.H., McDowell L.R., Ammerman C.B. & Blue W.G. 1980. Inter-relações entre minerais no solo, forrageiras e tecido animal. 2. Cobre e molibdênio. Pesq. Agropec. Bras. 15(3):335-341.
- Sousa J.C., Conrad J.H., Blue W.G., Ammerman C.B. & McDowell L.R. 1981. Inter-relações entre minerais no solo, plantas forrageiras e tecido animal. 3. Manganês, ferro e cobalto. Pesq. Agropec. Bras. 16(5):739-746.
- Sousa J.C., Conrad J.H., Mott G.O., McDowell L.R., Ammerman C.B. & Blue W.G. 1982. Inter-relações entre minerais no solo, plantas forrageiras e tecido animal no norte de Mato Grosso. 4. Zinco, magnésio, sódio e potássio. Pesq. Agropec. Bras. 17(1):11-20.
- Sousa J.C., Gomes R.F.C., Rezende A.M., Rosa I.V., Cardoso E.G., Gomes A., Costa F.P., Oliveira A.R., Coelho Neto L. & Curvo J.B.E. 1983. Resposta de novilhos nelorados à suplementação mineral em pastagens de capim-colonião. Pesq. Agropec. Bras. 18(3):311-318.
- Sousa J.C., Gomes R.F.C., Silva J.M.S. & Euclides V.P.B. 1985. Suplementação mineral de novilhos de corte em pastagens adubadas de capim-colonião. Pesq. Agropec. Bras. 20(2):259-269.
- Sousa J.C. & Darsie G. 1985. Deficiências minerais em bovinos de Roraima, Brasil. I. Zinco e cobalto. Pesq. Agropec. Bras. 20(11): 1309-1316.
- Sousa J.C. & Darsie G. 1986. Deficiências minerais em bovinos de Roraima. II. Ferro e manganês. Pesq. Agropec. Bras. 21(7):763-769.
- Sousa J.C., Gonçalves E.M., Viana J.A.C. & Darsie G. 1986. Deficiências minerais em bovinos de Roraima, Brasil. III. Cálcio e fósforo. Pesq. Agropec. Bras. 21(12):1327-1336.
- Sousa J.C., Gonçalves E.M., Viana J.A.C. & Darsie G. 1987. Deficiências minerais em bovinos de Roraima, Brasil. IV. Magnésio, sódio e potássio. Pesq. Agropec. Bras. 22(1): 89-98.
- Sousa J.C., Gomes R.F.C., Viana J.A.C., Nunes V.A., Schenk J.A.P., Rosa I.V. & Guimarães E.D. 1986. Suplementação mineral em bovinos com doença periodontal (cara inchada). I. Aspectos nutricionais. Revta Soc. Bras. Zoot. 15(1):1-16.
- Utzmöller P., Abreu A.V., Grift J. van der & Sombrock W.G. 1966. Mineral imbalances in cattle in the Amazon valley. Communication nº 53, Dep. Agric. Res., Amsterdam. 135p. + tables.
- Tokarnia C.H. 1970, 1986. Relatórios de viagens (UFRRJ, Seropédica, RJ).
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1976. Doenças causadas por deficiências minerais em bovinos em regime de campo no Brasil. In: Simpósio Latino-Americano sobre Pesquisa em Nutrição Mineral de Ruminantes em Pastagens, Belo Horizonte, Minas Gerais, p. 298-308.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1978. Diseases caused by mineral deficiencies in cattle raised under range conditions in Brazil, p. 163-169. In: Corand J.H. & McDowell L.R. (ed.) Latin American Symposium on Mineral Nutrition Research with Grazing Ruminants, Belo Horizonte, Brazil.
- 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. & Silva M.F. 1979. Plantas Tóxicas da Amazônia a Bovinos e outros Herbívoros. Inst. Nac. Pesq. Amazônia (INPA), Manaus, Amazonas, 95 p.
- Tokarnia C.H., Langenegger J., Lagenegger C.H. & Carvalho E.V. 1970. Botulismo em bovinos no Piauí, Brasil. Pesq. Agropec. Bras. 5:465-472.
- Underwood E.J. 1966. The Mineral Nutrition of Livestock. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, England, p. 132.
- Underwood E.J. 1981. The Mineral Nutrition of Livestock, 2nd ed. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, England, p. 102-103.

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA LEISHMANIOSE VISCERAL EM CÃES DE CORUMBÁ, MATO GROSSO DO SUL¹

VANIA L.B. NUNES², YOSHIMI Y. YAMAMOTO³, FREDERICO A. REGO JÚNIOR⁴, MARIA ELIZABETH C. DORVAL², EUNICE A.B. GALATI⁵, ELISA T. OSHIRO² e MARILENE RODRIGUES²

ABSTRACT.- Nunes V.L.B., Yamamoto Y.Y., Rego Jr. F.A., Dorval M.E.C., Galati E.A.B., Oshiro E.T. & Rodrigues M. 1988. [Epidemiological situation of visceral Leishmaniasis in dogs in Corumbá, Mato Grosso do Sul, Brazil] Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral em cães de Corumbá, Mato Grosso do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 8(1/2):17-21. Depto Patologia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Cx. Postal 649, Campo Grande, MS 79100, Brazil.

Recent reports on human cases with a clinical diagnosis of visceral Leishmaniasis in Corumbá, Mato Grosso do Sul state, where the agent had never been demonstrated parasitologically, caused a more thorough investigation of the local epidemiological situation of the dog population, one of the main reservoirs of the protozoa in question. Amastigotes were observed in parasitological examinations of skin and viscera in 7 out of 30 animals with clinical symptoms of kala-azar. The isolated parasites from infected dogs were identified as *Leishmania donovani* by biochemical methods. A serological survey was also carried out on 481 dogs from the urban area, by collecting blood on filter paper for indirect immunofluorescence and passive hemagglutination tests. The serological prevalence of the infection in the dog population studied was 8.7%, of which only 19% showed clinical signs of kala-azar. The remaining 81% was suggestive of being potential carriers without, however, ruling out the possibility of cross reactions with other animal protozoa. The canine infection is disseminated in practically all of the town.

INDEX TERMS: Visceral Leishmaniasis, canine infection, epidemiology.

SINOPSE.- Recentes relatos sobre casos humanos com diagnóstico clínico de leishmaniose visceral em Corumbá, Mato Grosso do Sul, onde o agente nunca havia sido demonstrado parasitologicamente, levou a uma melhor investigação epidemiológica local sobre a situação da população canina, um dos principais reservatórios do parasita. Formas amastigotas foram observadas através de exame parasitológico da pele e de vísceras de 7 entre 30 animais com sintomas clínicos de calazar. Os parasitas isolados de cães infectados foram identificados bioquimicamente como sendo *Leishmania donovani*. Inquérito sorológico foi também realizado em 481 cães da área urbana, através das reações de imunofluorescência indireta e hemaglutinação passiva, utilizando-se sangue coletado em papel de filtro. Sorologicamente, a prevalência da infecção na população canina estudada foi de 8,7%, dos quais, apenas 19% apresentavam sinais clínicos de calazar e o restante, 81%, eram sugestivos de serem portadores em potencial, sem contudo, poder ser excluída a possibilidade de reações cruzadas com outros protozoários. A infecção canina encontra-se praticamente disseminada por toda a cidade.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Leishmaniose visceral, infecção canina, epidemiologia.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral americana apresenta-se como problema de saúde pública em muitas áreas das Américas do Sul e Central. As áreas endêmicas mais extensas, situam-se em regiões semi-áridas da América Latina, sobretudo no nordeste brasileiro nos Estados do Ceará e da Bahia (Deane 1981, Silveira et al. 1982).

Apesar da suposição de que o primeiro caso humano autóctone do Continente Americano, comprovado parasitologicamente, tenha se infectado na região de Porto Esperança, município de Corumbá, Mato Grosso do Sul (Migone 1913, Deane 1956) desconhecemos estudos para a avaliação da amplitude do problema nessa região. Os dados da literatura, referem-se apenas a menções esporádicas sobre a existência da doença na zona rural de outras áreas do Estado de Mato Grosso do Sul (Oliveira 1938, Chagas & Chagas 1938, Arruda et al. 1949).

A notificação de casos humanos, com diagnóstico clínico de leishmaniose visceral, a partir de 1980, no Hospital e Centros de Saúde de Corumbá, assim como a observação de cães com aspectos sugestivos de calazar, nas ruas dessa cidade, conduziram a estudos visando esclarecer aspectos epidemiológicos da parasitose na região. Dessa forma, o presente trabalho tem por objetivo verificar a identificação da espécie de *Leishmania* e a sua prevalência na população canina uma vez que a infecção humana constitui reflexo da observada nos reservatórios.

¹ Aceito para publicação em 2 de julho de 1987.

² Departamento de Patologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Cx. Postal 649, Campo Grande, MS 79100.

³ Departamento de Análises Clínicas Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, Cx. Postal 30786, São Paulo, SP 01051.

⁴ Departamento de Inspeção e Defesa Agropecuária de Mato Grosso do Sul - IAGRO, Rua Treze de Junho 1577, Corumbá, MS 79300.

⁵ Departamento de Epidemiologia, Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, Av. Dr. Arnaldo 751, São Paulo, SP 01255.

MATERIAL E MÉTODOS

Área estudada

A cidade de Corumbá está inserida no Pantanal Matogrossense, à margem direita do Rio Paraguai a 18° 59' 44" de latitude Sul, 57° 39' 16" de longitude Oeste e altitude de 116 m acima do nível do mar (IBGE 1983).

O clima é quente e úmido com 3 meses secos (junho a agosto). A temperatura apresenta-se com a média das mínimas de 21,5° C e média das máximas de 30,4° C. As médias anuais para umidade relativa, precipitação pluviométrica, pressão atmosférica e nebulosidade são respectivamente 76,8%, 77,8 mm, 993,8 mb e 4,3% (IDESUL 1984).

A cidade implanta-se em solo de rocha calcárea com formações de morros, sendo estes revestidos por mata caducifolia raleada (Fig. 1).

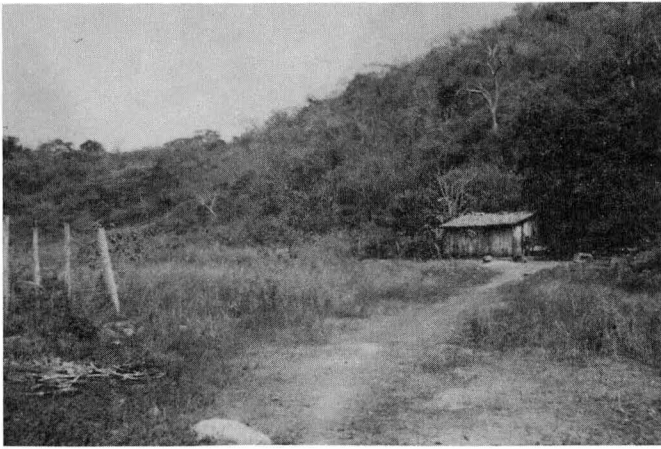


Fig. 1. Periferia de Corumbá, mostrando aspectos de topografia e vegetação.

A população humana do município para o ano de 1983 foi estimada em 81.145 habitantes, sendo 67.563 da área urbana e 13.582 da área rural (IBGE 1983).

Inquérito parasitológico

Cães com sinais clínicos compatíveis com calazar foram capturados, no período entre 38 de abril e 20 de maio de 1983, nas ruas do centro e da periferia da cidade de Corumbá, ao todo 30. Os animais foram sedados com cloridrato de clorpromazina e sacrificados com solução de cloreto de potássio a 20% (inoculação de cerca de 5 ml, via endovenosa).

O diagnóstico parasitológico foi efetuado através de lâminas de impressão de pele, linfonodo, fígado e baço, coradas pela solução de Giemsa.

Para o isolamento do parasita foram utilizados fragmentos de pele, linfonodo, baço e fígado. O material foi lavado 5 vezes em solução salina com antibiótico (penicilina, 2.000 UI/ml, e estreptomicina, 200 mg/ml), homogeneizado e semeado em meio NNN (Neal, Novy e Nicolle) enriquecido com BHI (infusão de cérebro e coração bovino). O homogeneizado foi também inoculado em hamsters (volume de 0,5 ml de material por animal, via intraperitoneal).

Os tubos de cultura foram mantidos à temperatura de 24° C em estufa incubadora tipo BOD e examinados semanalmente para formas promastigotas.

As culturas positivas e os hamsters inoculados experimentalmente foram enviados ao Instituto Evandro Chagas, Belém, Pará, para a identificação de *Leishmania*, segundo metodologia empregada nesse Instituto (Lainson et al. 1981).

Inquérito sorológico

Foram coletados, ao acaso, cerca de 800 amostras de sangue de cães, procedentes da área central e periférica da cidade de Corumbá. Contudo, problemas de ordem técnica, relacionados à coleta e armazenamento do sangue, permitiram que apenas 481 amostras fossem analisadas sorologicamente.

A distribuição das amostras, segundo os bairros é a seguinte: Centro – 130, Cidade Jardim – 63, Aeroporto – 71, Popular Velha – 71, Popular Nova e Guarany – 31, Cristo Redentor – 23, Maria Leite e Vila Mamona – 91.

O sangue coletado em papel de filtro Whatman nº 1, foi seco ao ar livre, colocado em sacos de polietileno e guardado a 20° C negativos em dessecador a vácuo. Esses papéis foram assim conservados por um período de no máximo 4 meses até a realização dos testes sorológicos. Para a reação, 2 discos de 1,4 cm de diâmetro foram eluídos em 0,4 ml de solução salina tamponada com fosfatos 0,01 M pH 7,2 (SSTF) por 18 horas a 4° C, obtendo-se assim uma diluição correspondente a 1/20 do soro.

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) foi realizada com formas promastigotas de uma amostra de *Leishmania donovani*, isolada de uma cão em Corumbá. Assim, para a obtenção desse antígeno, baço e fígado de hamster infectado com essa amostra foram homogeneizados e semeados em meio NNN, com fase líquida constituída de infusão de cérebro e coração bovino. Após 6 dias de incubação a 28° C, as formas promastigotas foram lavadas com SSTF e tratadas com formalina a 2% em temperatura ambiente, por 18 horas. Em seguida, os parasitas foram lavados em SSTF e fixados em áreas delimitadas de lâminas de microscopia, de modo a se ter 40 a 50 formas parasitárias por campo microscópico (400x).

Para análise dos soros, foi utilizada a técnica descrita por Guimarães et al. (1974), fazendo-se diluições na razão 2 do soro a partir de 1/20 e empregando-se conjugado fluorescente anti-gamaglobulina de cão⁶. As leituras foram realizadas em microscópio de fluorescência, marca Nikon, sistema de epi-iluminação com lâmpada de halogênio, filtro de excitação B, filtro barreira 515W e com aumento de 400x.

Para a reação e hemaglutinação passiva (RHP) utilizou-se a amostra 49 de *Leishmania braziliensis* como antígeno. Para a preparação do reagente e a análise dos soros, seguiu-se a técnica descrita anteriormente por Yamamoto et al. (1981). As diluições do soro iniciaram-se a partir de 1/20, utilizando-se a razão 2.

RESULTADOS

De 30 cães examinados parasitologicamente 7 foram positivos para formas amastigotas e as amostras isoladas do parasita, foram caracterizadas bioquimicamente como sendo *Leishmania donovani*.

Quadro 1. Resultados de RIFI e RHP em 481 cães de Corumbá, Mato Grosso do Sul, fevereiro a abril de 1984

Títulos de RHP	Títulos de RIFI							Sub-total
	<20	20	40	80	160	320	640	
<20	431	8	5	5	1	–	–	450
20	8	4	–	1	1	1	–	15
40	–	4	4	–	–	–	–	8
80	–	–	–	–	1	–	–	1
160	–	–	1	–	–	–	–	1
320	–	–	1	1	–	–	–	2
640	–	–	–	–	–	1	–	1
1280	–	–	1	–	–	–	2	3
Sub-total	439	16	12	7	3	2	2	481

⁶ O conjugado foi gentilmente cedido pelo Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.

Quadro 2. Distribuição percentual dos títulos dos 42 cães reagentes

Título	RIFI		RHP	
	Nº	%	Nº	%
<20	0	0	19	45,2
20	16	38,1	7	16,7
40	12	28,7	8	19,1
80	7	16,7	1	2,4
160	3	7,1	1	2,4
320	2	4,7	2	4,7
640	2	4,7	1	2,4
1280	0	0	3	7,1

Quadro 3. Relação de reagentes e não reagentes sorológicos e de animais com sinais clínicos de calazar do total de 481 cães examinados

Reagentes				Não reagentes				Totais
C/sinais clínicos	%	S/sinais clínicos	%	C/sinais clínicos	%	S/sinais clínicos	%	
08	19,0	34	81,0	42(8,7%)	30	6,8	409	93,2
								439(91,3%)

Quadro 4. Prevalência da infecção por *Leishmania donovani* segundo os bairros da cidade de Corumbá, Mato Grosso do Sul

Bairro	Cães analisados Nº	Cães reagentes (RIFI \geq 20 e/ou RHP \geq 40)		Prevalência da infecção %
		Nº	%	
Centro e Cervejaria	130	19	14,6	
Cidade Jardim	63	2	3,2	
Aeroporto	72	5	6,9	
Popular Velha	71	7	9,8	
Popular Nova e Guarany	31	0	0	
Cristo Redentor	23	2	8,7	
Maria Leite e Vila Mamona	91	7	7,7	
Total	481	42	8,7	

Os resultados da RIFI e da RHP observados em 481 cães estão expressos no Quadro 1. Utilizando-se o limiar de reatividade de 1/20 e 1/40 respectivamente para RIFI e RHP (Yamamoto et al. 1985), observaram-se 42 casos reagentes, representando 8,7% de positividade.

A distribuição percentual dos cães conforme os títulos de anticorpos encontra-se no Quadro 2.

A relação entre cães reagentes e presença ou não de sinais clínicos de leishmaniose visceral está expressa no Quadro 3, enquanto que a distribuição dos resultados segundo os bairros investigados está apresentada no Quadro 4.

DISCUSSÃO

Uma vez que o parasita isolado foi identificado como sendo *Leishmania donovani*, comprovou-se a ocorrência de calazar canino na área urbana de Corumbá. Deve-se assinalar que este achado constitui o primeiro relato da presença de parasitose em cães no Estado de Mato Grosso do Sul, tendo provas de certeza parasitológica e etiológica.

A avaliação do papel do cão como reservatório da leishmaniose visceral no Brasil, segundo diferentes técnicas, tem sido objeto de estudo de vários pesquisadores. Alen-

car et al. (1962) divulgaram dados sobre calazar em Santarém, Pará, onde 617 cães foram analisados através de fixação de complemento (RFC) encontrando uma taxa de infecção de 3,1%. No Ceará, Estado de alta endemicidade de calazar humano e canino, detectou-se uma taxa de infecção de 3,8% num total de 139.317 cães examinados pela RFC e/ou pela pesquisa de *Leishmania* (Alencar & Cunha 1963). Sherlock & Almeida (1969) em 554 animais examinados em Jacobina, Bahia, encontraram 2,5% de cães positivos através do exame do esfregaço de pele, da RFC no sangue e da punção hepática em alguns casos. Nestes trabalhos assim como em outros (Alencar et al. 1974/75, Sherlock & Almeida 1970) verifica-se a superioridade da RFC sobre os métodos parasitológicos em relação à capacidade de detectar índices de infecção. Atualmente, com o desenvolvimento de técnicas sorológicas mais sensíveis, a RFC tem sido deixada de lado, dando preferência à reação de imunofluorescência indireta que é menos laboriosa permitindo analisar grande número de soros (Iverson et al. 1983, Lanotte et al. 1974, 1979).

No presente trabalho, o emprego de duas técnicas sorológicas, RIFI e RHP teve como expectativa aumentar a sensibilidade na detecção de casos positivos. Contudo, os resultados mostraram que a utilização apenas da RIFI teria sido suficiente, em vista da baixa sensibilidade apresentada pela RHP. Tanto na RIFI como na RHP os títulos dos soros reagentes variaram de 20 até valores altos de 640 e 1280, entretanto, os dois testes apresentaram baixa concordância de resultados, como pode ser visto no Quadro 1. Somente cerca de 40% dos casos detectados pela RIFI mostraram-se reagentes pela RHP. Isto provavelmente se deve ao fato de ter sido usado antígeno homólogo para RIFI e heterólogo para RHP. Acrescenta-se também a diferença nos anticorpos detectados por estas reações: a RIFI detecta principalmente anticorpos dirigidos para a membrana do parasita e a RHP às estruturas citoplasmáticas.

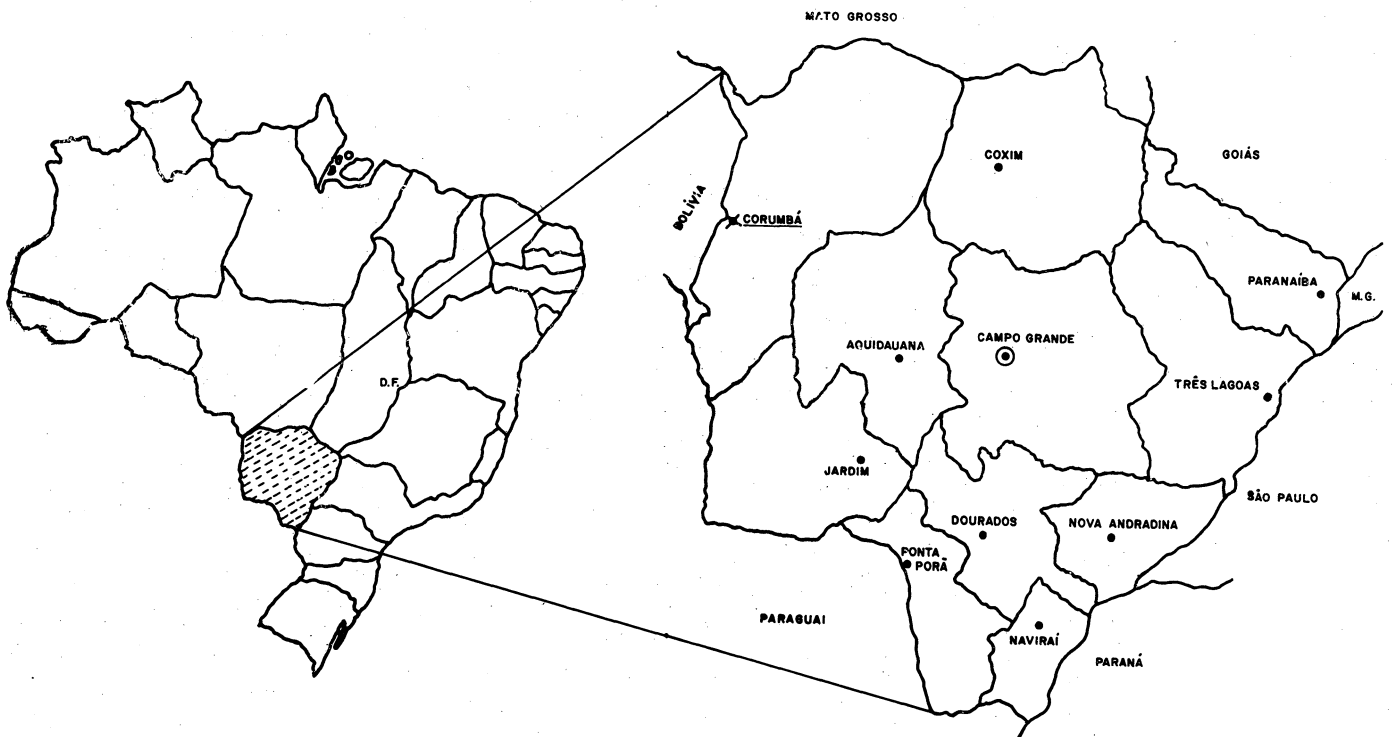
Utilizando-se o limiar de reatividade de 20 para RIFI e 40 para RHP como avaliados anteriormente (Yamamoto et al. 1985) foram encontradas 8,7% de prevalência da leishmaniose no total de 481 cães analisados. Este índice encontra-se próximo ao obtido por Magalhães et al. (1980) em inquéritos realizados em populações de cães no Estado de Minas Gerais.

Dados relevantes para o conhecimento epidemiológico da doença, encontram-se no Quadro 3; pois dentre os casos reagentes sorologicamente, 81 não apresentaram sinais clínicos de leishmaniose visceral, enquanto que apenas 6,8% dos que os apresentavam não tiveram sorologia positiva. Desta forma, o controle da doença na área, provavelmente será comprometido se a eliminação dos cães doentes basear-se apenas em critérios clínicos.

A ocorrência de reações cruzadas entre a doença de Chagas e leishmaniose visceral é conhecida de longa data (Brenner & Pellegrino 1958). Contudo, na região estudada não há relatos da ocorrência de *Trypanosoma cruzi* em cães, entretanto é conhecida a presença de *Trypanosoma evansi* nesses animais (Nunes 1986), sendo assim, impossibilita a exclusão de eventuais reações cruzadas em cães infectados por esse tripanossomo.

Através do Quadro 4 e da Figura 1, pode-se verificar

MATO GROSSO DO SUL NO BRASIL



CORUMBÁ - MS

- 1 CENTRO
- 2 CIDADE JARDIM
- 3 AEROPORTO
- 4 POP. VELHAS
- 5 POP. NOVAS
- 6 GUARANY
- 7 CRISTO
- 8 MARIA LEITE
- 9 VILA MAMONA

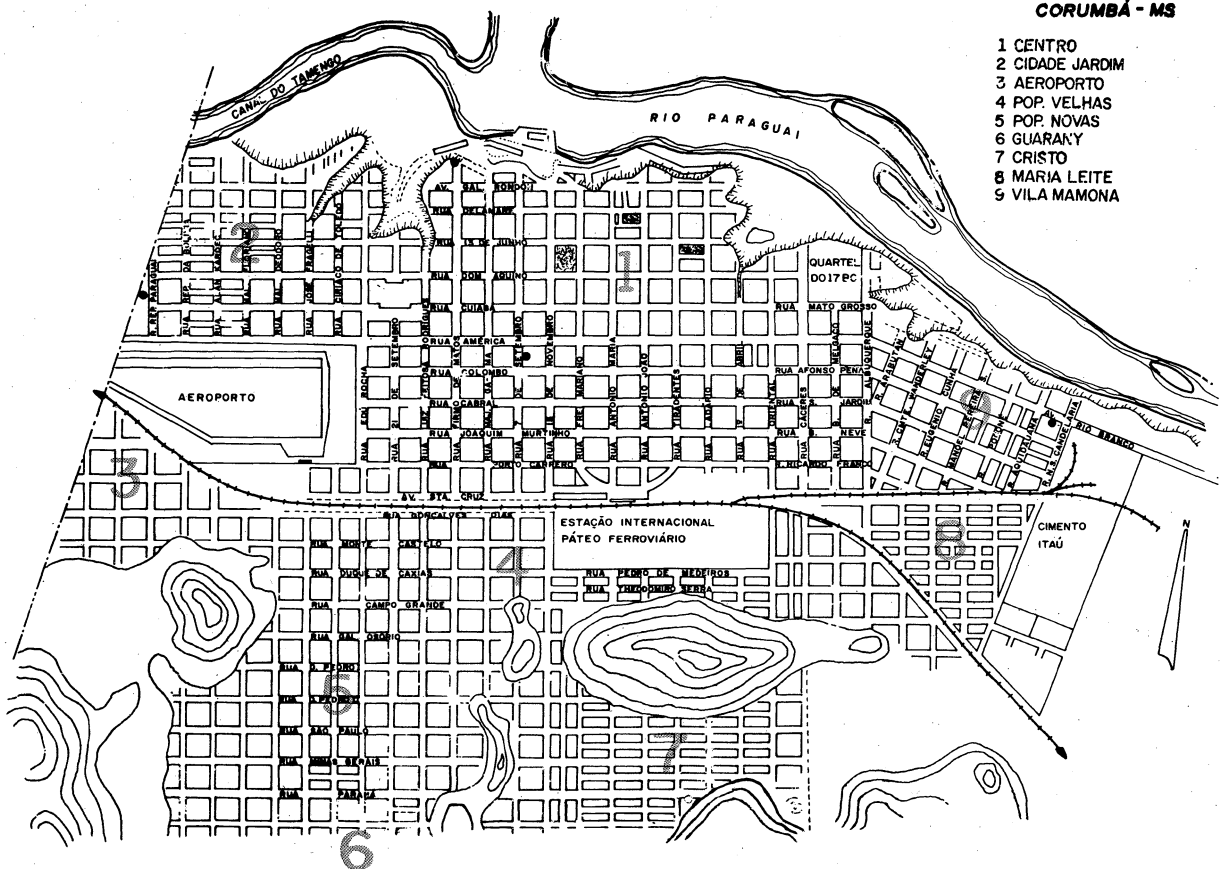


Fig. 2. Localização geográfica de Corumbá, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, foco urbano de calazar canino, atribuível a *Leishmania donovani*.

que a infecção canina encontra-se disseminada praticamente por toda a área urbana.

O resultado negativo encontrado para os bairros Guarany e Popular Nova provavelmente possa ser explicado pela pequena amostra analisada.

Estudos relativos à ação de vetores da leishmaniose visceral vem registrando a presença de *Lutzomyia cruzi*, com as mais expressivas densidades, em domicílios urbanos, quando comparadas com as das demais espécies que compõem a fauna flebotômica de Corumbá (dados não publicados).

CONCLUSÕES

Confirma-se a ocorrência de foco urbano de calazar canino, com etiologia atribuível a *Leishmania donovani* em Corumbá, Mato Grosso do Sul.

A prevalência da infecção na população canina obtida através de inquérito sorológico foi de 8,7%.

Dos cães sorologicamente reagentes, 81% não apresentavam sinais clínicos sugestivos de calazar canino.

Dos cães não reagentes, 6,8% apresentavam sinais clínicos sugestivos de calazar canino.

A infecção encontra-se disseminada praticamente por todos os bairros da cidade.

REFERÊNCIAS

Alencar J.E., Pessoa E.P. & Costa O.R. 1962. Calazar em Santarém, Estado do Pará, 1961. Revta Bras. Malariol. Doenças Trop. 14:371-377.

Alencar J.E. & Cunha R.V. 1963. Inquéritos sobre calazar canino no Ceará - novos resultados. Revta Bras. Malariol. Doenças Trop. 15(3):391-404.

Alencar J.E., Almeida Y.M., Silva Z.F., Paiva A.S. & Fonseca M.F. 1974/75. Aspectos atuais do calazar no Ceará. Revta Bras. Malariol. Doenças Trop. 26/27:27-53.

Arruda W., Costa F.C., Nahas S. & Rosenfeld G. 1949. Leishmaniose visceral americana. Bras. Med. 63:64-65.

Brener Z. & Pellegrino J. 1958. Reações imunológicas cruzadas em cães com doença de Chagas e leishmaniose visceral, naturalmente infectados. Revta Bras. Malariol. Doenças Trop. 10:45-49.

Chagas E. & Chagas A.W. 1938. Notas sobre epidemiologia da leishmaniose visceral americana em Mato Grosso. Hospital, Rio de J., 13(3):471-480.

Deane L.M. 1956. Leishmaniose visceral no Brasil. Serviço Nacional de Educação Sanitária, Rio de Janeiro, p. 162.

Deane L.M. 1981. Report on the epidemiology of the leishmaniasis in Bra-

zil. Meeting of the WHO Scientific Working Group on Leishmaniasis, Geneva.

Guimarães M.S.C., Giovannini V.L. & Camargo M.E. 1974. Antigenic standardization for mucocutaneous leishmaniasis immunofluorescence test. Revta Inst. Med. Trop., S. Paulo, 16(3):145-158.

IBGE 1983. Geografia do Brasil: Região Centro Oeste. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro, Vol. 1, no. 23.

IDESUL 1984. Fundação Instituto de Desenvolvimento de Mato Grosso do Sul, Secretaria de Planejamento e Coordenação Geral, Campo Grande, Mato Grosso do Sul.

Iverson L.B., Camargo M.E., Villanova A., Reichmann M.L.A.B., Andrade E.A. & Tolezano I.T. 1983. Inquérito sorológico para pesquisa de leishmaniose visceral em população canina urbana do município de São Paulo (1979-1982). Revta Inst. Med. Trop., S. Paulo, 25(6):310-317.

Lainson R., Miles M.A. & Shaw J.J. 1981. On the identification of viscerotropic leishmaniasis. Ann. Trop. Med. Parasit. 75:221-223.

Lanotte G., Rioux J.A., Croset H. & Vollhardt Y. 1974. Ecologie des leishmanioses dans le sud de la France. 7. Despitage de l'enzootie canine par les méthodes immunosérologiques. Ann. Parasitol., Paris, 49(1):41-62.

Lanotte G., Rioux J.A., Perieres J. & Vollhardt Y. 1979. Ecologie des leishmanioses dans le sud de la France. 10. Les formes évolutives de la leishmaniose viscérale canine. Elaboration d'une typologie bio-clinique à finalité épidémiologique. Ann. Parasitol., Paris, 54(3):277-295.

Magalhães P.A., Mayrink W., Costa C.A., Melo M.N., Dias M., Batista S.M., Michalick M.S.M. & Williams P. 1980. Calazar na Zona do Rio Doce, Minas Gerais. Resultados de medidas profiláticas. Revta Inst. Med. Trop., S. Paulo, 22(4):197-202.

Migone L.E. 1913. Un caso de calazar a Assuncion (Paraguay). Bull. Soc. Pathol. Exot. 6:118-120.

Nunes V.L.B. 1986. Comunicação pessoal (Depto Patologia, Univ. Fed. Mato Grosso do Sul, Campo Grande).

Oliveira A.C. 1938. Um caso de leishmaniose visceral americana. Hospital, Rio de J., 13(3):465-470.

Sherlock I.A. & Almeida S.P. 1969. Observações sobre calazar em Jacobina, Bahia. II. Leishmaniose canina. Revta Bras. Malariol. Doenças Trop. 21:535-239

Sherlock I.A. & Almeida S.P. 1970. Notas sobre leishmaniose canina no Estado da Bahia. Revta Bras. Malariol. Doenças Trop. 22:231-242.

Silveira F.T., Lainson R., Shaw J.J. & Povoas M.M. 1982. Leishmaniasis in Brazil. XVIII. Further evidence incriminating the fox *Cerdocyon thous* (L.) as a reservoir of Amazonian visceral leishmaniasis. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 76(6):830-832.

Yamamoto Y.I., Ceneviva A.C. & Moura R.A.A. 1981. Leishmaniose cutâneo-mucosa: reações de hemaglutinação passiva e de contraímuno-eletroforese com antígeno de *Leishmania brasiliensis*. Revta Farm. Bioquim. Univ. S. Paulo 17(1):123-132.

Yamamoto Y.I., Nunes V.L.B., Rego Jr. F.A., Oshiro E.T. & Dorval M.E.C. 1985. Estudo da eficiência das reações de imunofluorescência e de hemaglutinação passiva no diagnóstico da leishmaniose visceral em cães. XII Reunião Anual sobre Pesquisa Básica em Doença de Chagas, Caxambú, Minas Gerais.

REPRODUÇÃO DA LINFADENITE CASEOSA EM CAPRINOS COM PEQUENO NÚMERO DE *Corynebacterium pseudotuberculosis*¹

JEROME LANGENEGGER² e CHARLOTTE HUBINGER LANGENEGGER²

ABSTRACT. Langenegger J. & Langenegger C.H. 1988. [Reproduction of caseous lymphadenitis in goats by small numbers of *Corynebacterium pseudotuberculosis*.] Reprodução da linfadenite caseosa em caprinos com pequeno número de *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 8(1/2):23-26. Embrapa-UAPNPSA, 23851 Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil.

Caseous lymphadenitis was reproduced experimentally by intradermic inoculation of 5, 20 and 100 washed *Corynebacterium pseudotuberculosis* bacteria in 26 normal goats. Between day 2 and 9 after inoculation, there was local erythema, papula and skin ulceration and, at day 15, a small enlargement of the local lymph node. Between day 45 and 180, independent of the infective dose rate, the infection developed to an abscess in the local lymph node of about one third of the goats. A similar number showed a pronounced enlargement of the local lymph node, but these later became normal again. The remainder of the goats showed an early return to normal after the initial signs of infection. All 26 goats, except 2, presented an antitoxin titre during some phase of the infection. The experimental infection was shown to develop as the natural. It was concluded that selfcures, demonstrated experimentally, must also occur in the field, making clinical and immunological diagnosis difficult.

INDEX TERMS: Caseous Lymphadenitis, experimental infection, goats, pathogenesis.

SINOPSE. - A linfadenite caseosa foi reproduzida experimentalmente através da inoculação intradérmica de 5, 20 e 100 bactérias lavadas de *C. pseudotuberculosis* em 26 caprinos normais. A infecção manifestou-se, inicialmente, por formação de eritema, pápula, pústula e ulceração local da pele entre o 2º e o 9º dia pós-inoculação e no 15º dia por um ligeiro aumento do linfonodo satélite. Posteriormente, entre o 45º e o 180º dia, independentemente da dose infectante usada, a infecção evoluiu para abscedação do linfonodo local em cerca de 1/3 dos caprinos. Em outro número similar, observou-se acentuado aumento do volume do linfonodo mas que depois regrediu e, finalmente, nos restantes houve rápida normalização após os sinais iniciais da infecção. Dos 26 caprinos apenas 2 não apresentaram antitoxinas no soro durante nenhuma fase da infecção. Foi demonstrado com o presente experimento que a infecção evoluiu simulando a natural e concluiu-se que as curas espontâneas observadas também devem ocorrer nas infecções de campo, dificultando o diagnóstico clínico e imunológico.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Linfadenite caseosa, infecção experimental, caprinos, patogenia.

INTRODUÇÃO

Relativamente pouco se conhecia sobre a patogenia da linfadenite caseosa dos ovinos e caprinos no que se refere à fase pre-clínica da infecção. Após o reconhecimento do agente etiológico, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, por Nocard (1889) e Preisz (1894), foi aceita, por longo tempo, que a principal via de infecção no ovino seriam as feridas acidentais causadas pela tosquia e corte da cauda

(Carne 1932, Bull & Dickinson 1935). As tentativas de reproduzir a doença em ovinos e caprinos através da inoculação de culturas, por via subcutânea, davam resultados muito diferentes comparados com a infecção natural. Doses maiores causavam quadros clínicos aberrantes (Abdel-Hamid 1973) e doses menores não reproduziam o quadro clínico da doença com regularidade, o que dificultava esclarecer aspectos da patogênese e da epizootiologia da linfadenite caseosa.

Nas duas últimas décadas foram testadas várias maneiras de reproduzir a linfadenite caseosa. Partindo do pressuposto de que a infecção por *C. pseudotuberculosis* em caprinos na região seca do nordeste do Brasil fosse ocasionada via ferimentos da pele causado por espinhos de cactáceas existentes nas pastagens, Costa Filho et al. (1967) reproduziram a doença escarificando e perfurando a pele de 14 caprinos com espinhos e colocando sobre a área ferida o pús de abscessos causados por *C. pseudotuberculosis*. A partir do 3º mês pós-infecção os animais começaram a apresentar abscessos nos pontos de inoculação e posteriormente formando cadeias nos vasos e linfonodos, inclusive com lesões nos órgãos internos. Não fora feita monitoração sorológica ou alérgica.

Movido pela necessidade de dispor de um modelo experimental que reproduzisse regularmente a linfadenite caseosa em ovinos visando o teste de vacinas contra a doença, Cameron et al. (1972) utilizaram-se da inoculação intravenosa. Esta via de infecção permitiu obter abscessos múltiplos nos pulmões com certa regularidade, o que foi comprovado por Brogden et al. (1984).

A possível predisposição dos banhos sarnicidas na in-

¹ Aceito para publicação em 17 de agosto de 1987.

² Embrapa - Unidade de Apoio ao Programa Nacional de Pesquisa em Saúde Animal, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851.

fecção dos ovinos por *C. pseudotuberculosis*, levou Nairn & Robertson (1974) a descoberta de que a infecção pode estabelecer-se através da pele intacta e cuja evolução muito se assemelhava a infecção natural. Os autores comprovaram a presença de antitoxinas pelo teste de inibição da antihemolisina descrita por Zaki (1968).

Nagy (1976) procurou explorar outras prováveis vias de infecção, inoculando cultura de *C. pseudotuberculosis* em 30 ovinos por via vaginal, prepucial, oral, intratraqueal, subcutânea e através de ferimentos (cortes) na pele. Verificou na necropsia que, pelo número de abscessos encontrados nos linfonodos, a via mais afetiva foi a dos ferimentos da pele (26 abscessos), seguida da subcutânea (12), vaginal (9), intratraqueal (7), oral (2) e prepucial (0). Fez controles clínicos apenas no 5º, no 35º e no 122º dia após-infecção, sem testes sorológicos.

Husband & Watson (1977) e Burrell (1978) desenvolveram um modelo experimental de infecção do *C. pseudotuberculosis* via o vaso linfático aferente do linfonodo poplíteo, que permitiu reproduzir a doença com certa regularidade. Usaram esta via de infecção por simular a infecção natural para estudar aspectos imunológicos e histopatológicos iniciais da infecção.

Ashfag & Campbell (1980) e Campbell et al. (1982) induziram a linfadenite caseosa em 14 caprinos inoculando, simultaneamente, 1×10^6 *C. pseudotuberculosis* de cultura lavada pelas vias subcutânea, intradérmica e submucosa. Durante os primeiros 3 dias os animais mostraram-se abatidos com o dorso arqueado e pêlos arrepiados. Nos pontos de inoculação manifestaram-se reações inflamatórias que desapareceram 4 a 5 dias após. Em todos os caprinos desenvolveram-se abscessos em vasos e linfonodos satélites e, em apenas 1, foram encontradas lesões nos pulmões. O período de incubação até o aparecimento de abscesso palpáveis variou de 41 a 147 dias com média de 95,2 dias e o período de eliminação do germe através da abertura cirúrgica de 20 abscessos variou de 9 a 37 dias com média de 20,3 dias. Não foi feita monitoração sorológica das infecções.

Brown et al. (1985, 1986) fizeram a reprodução experimental da linfadenite caseosa em três grupos de 5 caprinos indenes pela inoculação intradérmica com doses de $0,25 \times 10^6$, $0,50 \times 10^6$ e $4,2 \times 10^6$ de bactérias lavadas de *C. pseudotuberculosis*, na fossa lombar. Todos os animais revelaram febre transitória nas primeiras 24 horas e acentuada reação inflamatória nos pontos de inoculação no 3º dia. No final da 1ª semana houve ulceração da pele e exsudação de material purulento. Na maioria dos animais apareceram múltiplos abscessos localizados no ponto de inoculação, nos linfonodos, como também em órgãos internos, visto na necropsia feita aos 127 dias pós-infecção. Houve monitoração sorológica e alérgica.

Considerando que a reprodução experimental da linfadenite caseosa em ovinos e caprinos vinha sendo feita por vias estranhas ou com doses inoculantes muito grandes de *C. pseudotuberculosis*, dificilmente viáveis na natureza, julgou-se oportuno induzir infecções com pequeno número de bactérias, por inoculação intradérmica para acompanhar a evolução da doença em condições que se assemelhassem mais às da infecção natural.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram usados 26 caprinos com 4 e 6 meses de idade e também

alguns animais adultos, procedentes de criações livres da linfadenite caseosa. Durante a experimentação, os caprinos foram mantidos em grupos, em abrigos isolados com acesso a piquetes e recebiam suplementação de forragem verde e ração concentrada.

Antes da infecção experimental, todos os animais foram submetidos ao teste de inibição da hemólise sinérgica (Knight 1978) e à prova alérgica cutânea (Langenegger et al. 1987a,b) para assegurar a ausência da infecção por *Corynebacterium pseudotuberculosis*. A infecção foi realizada na pele do flanco na região prefemural após depilação de área com cerca de 6x6 cm de lado, por injeção intradérmica da suspensão bacteriana na dose de 0,1 ml. O inóculo consistiu da suspensão em salina de *C. pseudotuberculosis*, amostra 303, isolada por abscesso de caprino, mantida em meio de soro de Loeffler e periodicamente passada em cobaios. Partindo da cultura em meio de Caldo de Soja Tríplice (TSB), incubada a 37°C durante 24 hs, a massa bacteriana foi lavada duas vezes em salina, suspensa em volume igual ao anterior da cultura e diluída até 10^{-6} . Nesta última, eram encontrados ao redor de 100 unidades formadoras de colônias (CFU) em 0,1 ml. A partir desta, por diluições proporcionais, foram obtidos os inóculos com 20 e 5 unidades. Três grupos de caprinos com 5, 8 e 13 animais foram infectados respectivamente com 5, 20 e 100 CFUs de *C. pseudotuberculosis*. A presença e o número de bactérias viáveis inoculadas nos caprinos de cada grupo foi assegurada pela infecção, imediatamente após, de 2 cobaios e pela semeadura em duas placas de agar-sangue, da mesma dose do inóculo usado na infecção dos caprinos.

As infecções experimentais, foram monitoradas, inicialmente, por inspeção diária dos animais com especial atenção sobre o estado geral de saúde, o ponto de inoculação e a palpitação comparativa dos linfonodos precurais opostos. Da 3ª à 6ª semana pós-infecção foram feitos controles semanais e posteriormente de 3 em 3 semanas até o final do 6º mês. Foram registradas alterações que se sucederam no ponto de inoculação, o aumento do volume do linfonodo satélite, a resposta imunológica humoral através da prova SHI e da linfadenização.

No final do período experimental, a presença ou ausência da infecção e de lesão nos linfonodos e vísceras foi confirmada por exames necroscópicos e bacteriológicos.

RESULTADOS

A inoculação experimental intradérmica de 5, 20 e 100 CFU de *Corynebacterium pseudotuberculosis* revelou as seguintes alterações durante a evolução da infecção por 180 dias:

a) *Sinais clínicos*. Nenhum dos 26 caprinos revelou febre ou qualquer distúrbio no estado geral de saúde nas primeiras duas semanas pós-infecção.

b) *Lesões no ponto de inoculação*. A inspeção do local da inoculação mostrou nítido eritema nos animais de pele branca que se concentrou entre o 1º e o 3º dia após a infecção, a formação de pápula entre o 3º e o 5º dia e a transformação desta em pústula entre o 5º e o 7º dia, ulcerando em seguida. O tamanho da úlcera na pele variou entre 2 e 5 mm de diâmetro, sendo em geral maiores as mais precoces. Em torno do 12º e 14º dia completava-se a cicatrização da ulceração, geralmente precidida por uma crosta seca.

c) *Reação do linfonodo*. Ao final da 2ª semana pós-infecção, a palpitação dos linfonodos precurais satélites do local da inoculação evidenciava um pequeno aumento de volume (+) em relação ao linfonodo oposto em todos os animais. Nos controles seguintes, aos 42, 84, 126 e 168 dias, a evolução da infecção revelou que cerca de 1/3 dos animais o linfonodo precural continuou aumen-

Quadro 1. Evolução da infecção experimental com 5, 20 e 100 bactérias viáveis de *Corynebacterium pseudotuberculosis* em caprinos

Nº de ordem	Caprino nº	Nº bact. inoc.	Lesões da pele					Alterações dos linfonodos					Exames					
			1 ^(a)	3	5	7	9	14	42	84	126	168	180 ^(b)	Bact.	Sorol.	Alerg.		
01	001	5		e ^(c)	pa					-(d)	-	-	-	-	-	-	-	1,2
02	004	5	e	pa		pu	ulc	+	±	±	±	-	-	-	-	1/160		4,8
03	006	5		e	pa			-	-	-	-	-	-	-	-	1/20		2,0
04	010	5	e	pa	pu	ulc		+	++	+++	abs		+	+	+	1/80		7,9
05	396	5	e	pa	pu	ulc		+	++	+++	abs	ulc	-	-	-	1/160		9,0
06	003	20	e	pa	pu	ulc		+	++	+++	abs		+	+	+	1/40		8,0
07	007	20		e	pa		n	-	-	-	-	-	-	-	-	1/20		3,0
08	367	20	e	pa	pu	ulc		+	+	++	++	+	-	-	-	1/40		4,0
09	369	20	e	pa		pu	ulc	+	±	±	±	±	-	-	-	1/80		6,0
10	370	20	e	pa	pu	ulc		+	+++	abs			+	+	+	1/80		7,3
11	371	20		e	pa	pu	ulc	±	-	-	-	-	-	-	-	1/20		2,0
12	385	20	e	pa	pu	ulc		+	±	-	+	+	-	-	-	1/160		10,0
13	388	20		e	pa	pu	ulc	+	±	±	±	-	-	-	-	1/40		6,0
14	021	100	e	pa	ulc			+	++	++	abs		+	+	+	1/320		7,0
15	022	100	e	pa	pu	ulc		+	+++	+	-	-	-	-	-	1/160		2,8
16	023	100	e	pa	pu	ulc		+	+	-	-	-	-	-	-	1/160		3,2
17	025	100		e	pa	pu	ulc	+	+	++	+++	abs	+	+	+	1/160		4,0
18	026	100		e	pa	pu	ulc	+	++	-	-	-	-	-	-	1/80		9,6
19	027	100	e	pa	pu	ulc		+	++	-	-	-	-	-	-	1/320		2,6
20	028	100	e	e		pa	n	+	-	-	-	-	-	-	-	-		0,7
21	029	100		e	pa	pu	ulc	+	++	-	-	-	-	-	-	1/20		2,5
22	030	100		e	pa	pu	ulc	+	+	-	-	abs	+	+	+	1/160		4,1
23	031	100	e	pa	pu	ulc		+	+++	+	-	-	-	-	-	1/1280		6,0
24	OCP	100	e	pa	pu	ulc		+	+++	+	-	-	-	-	-	1/1280		
25	OCB	100	e	pa	pu	ulc		+	-	-	-	-	-	-	-	1/40		
26	366	100	e	pa	pu	ulc		+	+++	abs			+	+	+	1/20		5,3

(a) Dias após a infecção;

(b) Achados à necropsia;

(c) e = eritema, pa = pápula, pu = pústula, ulc = úlcera, n = normal, abs = abscesso;

(d) - = não aumentado, + = aumento discreto (\pm 25% maior que o oposto), ++ = aumento médio (\pm 50% maior que o oposto), +++ = aumento acentuado (o dobro ou mais).

tando progressivamente de volume (++, +++) e em torno do 126º dia passou a apresentar deformação que caracterizava um abscesso palpável. Em outro terço dos animais também houve acentuado aumento de volume do linfonodo precural (++, ++++), mas a partir do 84º dia de observação ocorria lenta regressão do tamanho dos linfonodos que aos 180 dias eram aparentemente normais. Dos animais restantes alguns mantinham um ligeiro aumento do volume (+) do linfonodo até o 42º dia, mas logo depois todos voltavam ao tamanho normal permanecendo até o 180º dia. O Quadro 1, resume o comportamento individual de cada animal e sintetiza a tendência da evolução da infecção, nos dias 14, 42, 84, 126 e 168 após a infecção.

d) *Outras alterações patológicas.* A inoculação experimental com pequeno número de bactérias não causou o aparecimento de abscedações na pele, no ponto de inoculação ou ao longo de vasos linfáticos. Nos linfonodos, limitou-se apenas nos satélites do local da inoculação, excetuando-se um caso em que abscedou o linfonodo submandibular. Não foi registrado nenhum caso de lesões internas. Em todos os abscessos foi confirmada a presença de *C. pseudotuberculosis* bacteriológicamente.

e) *Reação imunológica.* A infecção experimental foi comprovada pela presença de antitoxinas, exceto em dois animais, reveladas pelo método da inibição da hemólise sinérgica, variando títulos de 0 a 1/1280. No Quadro 1 estão registrados os maiores títulos encontrados em uma

fase da evolução da infecção. Paralelamente, a infecção também foi testemunhada pela sensibilidade alérgica através da linfadenização acusando reações positivas em 24 animais e reação considerada negativa em 2 conforme ilustra o Quadro 1.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Na presente pesquisa foi reproduzida experimentalmente a linfadenite caseosa em caprinos através da inoculação intradérmica de apenas 5, 20 e 100 bactérias lavadas de *Corynebacterium pseudotuberculosis*, comportando-se a evolução da infecção muito semelhantemente ao que se observa na doença a campo. O resultado é parecido ao de Nairn & Robertson (1974) que demonstraram ser possível a instalação da infecção através da pele íntegra. Embora os autores tenham usado uma cultura de *C. pseudotuberculosis* com 10^8 CFU e assim colocado grande número de bactérias sobre o pelo do animal, o número de germes invasores, presumivelmente, tenha sido pequeno a julgar pela reduzida proporção de lesões que se transformaram em "crateras" com evolução semelhanté ao das pápulas, pústulas e úlceras assinaladas na presente pesquisa, e posteriormente a abscedação dos linfonodos satélites. As infecções em condições naturais, certamente, são favorecidas quando há soluções de continuidade da pele como pôde demonstrar Costa Filho et al. (1967) e Nagy (1976), mas apesar disso, o número de bactérias fagocitadas deve

ser reduzido pois na grande maioria a evolução da infecção transcorre sem comprometimento agudo da saúde do animal, mas tão somente com a manifestação tardia de lesões supurativas de um ou mais linfonodos. Ao contrário, quando as infecções experimentais são feitas com grande número de bactérias e, ainda se o inóculo contiver toxinas da cultura, a evolução da linfadenite caseosa se torna atípica como foi verificado nas infecções subcutâneas (Abdel-Hamid 1973), endovenosa (Cameron 1972, Brogden et al. 1984), linfática (Husband & Watson 1977, Burrell 1978) e mesmo na via intradérmica e intramucosa (Ashfag & Campbell 1980, Campbell et al. 1982, Brown et al. 1985, 1986) com doses na ordem de 10^6 CFU.

A presente pesquisa revelou aspectos inéditos no que se refere ao comportamento da evolução da infecção pois, aparentemente, não houve diferença acentuada entre os grupos de caprinos infectados com 5, 20 e 100 bactérias como mostram os sinais iniciais das lesões da pele traduzidos pelo eritema, pápula, pústula e úlcera e pelo pequeno aumento de volume do linfonodo satélite nas duas semanas pós-infecção. Posteriormente, também independentemente da dose de bactérias infectantes, a infecção evoluiu para três patamares distintos pois em cerca de 1/3 dos animais houve abscedação do linfonodo precural, em outro número semelhante houve nítido aumento de volume do linfonodo local até o 84º dia pós-infecção; este depois regrediu para o normal e finalmente o grupo restante que, após os sinais iniciais da infecção, também voltou ao normal. Dos 26 caprinos infectados apenas 2 não apresentaram antitoxinas e sensibilidade alérgica em uma fase da infecção, detectáveis com os testes usados.

O resultado desta pesquisa permitiu concluir que, à exemplo das autocuras observadas nestas infecções experimentais, precedidas por lesões locais da pele, reação ganglionar e resposta imunológica, o mesmo deve ocorrer nas infecções à campo. Este achado esclarece que as autocuras nas infecções à campo por *C. pseudotuberculosis* dificultam o diagnóstico clínico e tornam inespecíficas as provas sorológicas e alérgica do diagnóstico imunológico precoce da linfadenite caseosa, se a especificidade do teste for baseada na ocorrência de lesões supurativas.

Agradecimentos.- Os autores agradecem o apoio financeiro da FINEP que permitiu complementar a infraestrutura laboratorial e de campo para o desenvolvimento da presente pesquisa, bem como a valiosa assistência do Técnico de Laboratório Orlandino José Gregório e dos Laboratoristas José Enéas Barbosa e Marildo de Azevedo.

REFERÊNCIAS

- Abdel-Hamid Y.N. 1973. A clinical investigation on the manifestation of goats to experimental infection with *C. ovis*. J. Egyptian Vet. Med. Ass. 33:45-53.
- Ashfag M.K. & Campbell S.G. 1980. Experimentally induced caseous lymphadenitis in goats. Amer. J. Vet. Res. 41:1789-1792.
- Brogden K.A., Cutlip R.C. & Lehmkuhl H.D. 1984. Experimental *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in lambs. Am. J. Vet. Res. 45:1532-1534.
- Brown C.C., Olander H.J., Biberstein E.L. & Moreno D. 1985. Serologic response and lesions produced in goats experimentally infected with *Corynebacterium pseudotuberculosis* of caprine and equine origin. Am. J. Vet. Res. 46:2322-2326.
- Brown C.C., Olander H.J., Biberstein E.L. & Morse S.M. 1986. Use of a toxoid vaccine to protect goats against intradermal challenge exposure to *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Am. J. Vet. Res. 47:1116-1119.
- Burrell D.H. 1978. Experimental induction of caseous lymphadenitis in sheep by intralymphatic inoculation of *Corynebacterium ovis*. Res. Vet. Sci. 24:269-276.
- Cameron C.M., Minnaar J.L., Engelbrecht M.M. & Purdon M.R. 1972. Immune response of merino sheep to inactivated *Corynebacterium pseudotuberculosis* vaccine. Onderstepoort J. Vet. Res. 39:11-24.
- Campbell S.G., Ashfag M.K. & Tashjian J.J. 1982. Caseous lymphadenitis in goats in the USA. Proc. Annu. Meet. Goat Prod. Dis. 3:449-454.
- Carne H.R. 1932. The diagnosis of caseous lymphadenitis by means of intradermal inoculation of allergic reagents. Aust. Vet. J. 8:42-47.
- Costa Filho G.A., Magalhães M., Barreto S.C.P., Fraga I.S. & Duarte C.F. 1967. Improvisação da inoculação natural para verificação do poder imunogênico da vacina contra a linfadenite caseosa dos caprinos do Instituto Biológico da Bahia. Bolm Téc. n° 29, Inst. Pesq. Agron., Recife, Brasil.
- Husband A.J. & Watson D.L. 1977. Immunological events in the popliteal lymph node of sheep following infection of live or killed *Corynebacterium ovis* into an afferent popliteal lymphatic duct. Res. Vet. Sci. 22:105-112.
- Knight H.D. 1978. A serologic method for the detection of *C. pseudotuberculosis* infections in horses. Cornell Vet. 68: 220-237.
- Langenegger C.H., Langenegger J. & Costa S.G. 1978a. Allergen for the diagnosis of caseous lymphadenitis in goats. Proc. IV Int. Conf. on Goats, Brasília, 2:1347-1348. (Abstract)
- Langenegger C.H., Langenegger J. & Costa S.G. 1978b. Alérgeno para o diagnóstico da linfadenite caseosa em caprinos. Pesq. Vet. Bras. 7(2):1987.
- Nagy G. 1976. Caseous lymphadenitis in sheep: methods of infections. J. S. Afr. Vet. Assoc. 47:197-199.
- Nairn M.E. & Robertson J.P. 1974. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection of sheep: role of skin lesions and dipping fluids. Aust. Vet. J. 50:537-542.
- Nocard, 1889. (Cited by Wilson and Miles 1955)
- Preisz, 1984. (Cited by Wilson and Miles 1955)
- Wilson G.S. & Miles A.A. 1955. Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity. Vol. 1, 4th ed. Edward Arnold, London.
- Zaki M.M. 1968. The application of a new technique for diagnosing *Corynebacterium ovis* infection. Res. Vet. Sci. 9:489-493.

AVALIAÇÃO DE VACINA CONTRA LINFADENITE CASEOSA EM CAPRINOS MANTIDOS EM REGIME EXTENSIVO¹

ORLANDO CAVALCANTE RIBEIRO², JOSÉ ARTHUR HAGE DA SILVA², PAULO CESAR COSTA MAIA² e WILSON GOSLAN CAMPOS²

ABSTRACT.- Ribeiro O.C., Silva J.A.H., Maia P.C.C., Campos W.G. 1988. [Evaluation of an inactivated vaccine against caseous lymphadenitis of goats kept under extensive management.] Avaliação da vacina contra linfadenite caseosa em caprinos mantidos em regime extensivo. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 8(1/2):27-29. Lab. Bacteriologia, EPABA, Av. Ademar de Barros 967, Ondina, Salvador, Bahia 40000, Brazil.

The experiment was carried out during a 2-year period (Oct. 1981 to Oct. 1983), using 163 goats of both sexes with 6 to 12 months of age. The objective was to evaluate the immunogenicity of a vaccine against caseous lymphadenitis, in northeastern Bahia. The vaccine was developed, utilizing the local strain 1002 Curaçá of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolated from an abscess of a goat. For the preparation, tryptose broth, enriched with yeast extract and lactalbumin, was used. Inactivation was effected with 0.5% formaldehyde, and aluminum gel phosphate was used as an adjuvant. The cell volume varied from 0.65 to 0.7%. The experiment consisted of the following treatments: A₁ - animals vaccinated every 6 months; A₂ - animals vaccinated once a year; and A₃ - animals not vaccinated. The goats were vaccinated by subcutaneous inoculation of 3 ml vaccine into each axillar region, and post-mortem examination was made at the end of the experiment. The results showed that 72.1% of the control animals (A₃) had moderate to severe lesions in different lymphnodes, and in some cases in the internal organs. Of the vaccinated animals, only 25.9% and 18.9%, at 6 and 12 months interval respectively, showed discrete lesions which were restricted to no more than three lymphnodes per animal. There was a significant difference (P<0,05) between the vaccinated and the non-vaccinated animals, but no difference between treatment A₁ and A₂. It can be estimated that the vaccination gave a protection of 77% against the disease.

INDEX TERMS: Caseous lymphadenitis, vaccine, goat.

SINOPSE.- Foram utilizados 163 caprinos de ambos os sexos, de 6 a 12 meses de idade, com o objetivo de avaliar a imunogenicidade de uma vacina contra a linfadenite caseosa, no Nordeste do Estado da Bahia. A vacina foi elaborada com a cepa 1002 Curaçá de *C. pseudotuberculosis*, isolada de abscesso de caprino, cultivada em caldo tryptose, enriquecida com extrato de levedura mais lactalbumina e inativada com formaldeído a 0,5% durante 7 dias, utilizando-se como adjuvante o gel fosfato de alumínio. O volume celular variou de 0,65 a 0,70%. O experimento constituiu-se dos seguintes tratamentos: A₁ - animais vacinados semestralmente; A₂ - vacinados anualmente; A₃ - animais não vacinados. Os animais vacinados foram inoculados via subcutânea com 3 ml da vacina em cada região axilar e, ao final do experimento, foram necropsiados. Os resultados mostraram que 72,1% dos caprinos do grupo testemunha A₃ se infectaram naturalmente e apresentaram lesão moderada a severa em vários linfonodos e, em alguns casos, nos órgãos internos. Dos vacinados, apenas 25,9 e 18,9%, respectivamente, para os revacinados com 6 e 12 meses de intervalo, apresentaram lesões discretas que se restringiram a não mais de três linfonodos por animal. Houve diferença significativa (P<0,05) entre os animais vacinados e não vacinados mas não houve diferença entre os tratamentos A₁ e A₂. Pode-se estimar que a vacina proporcionou 77% de proteção contra a doença.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, vacina, linfadenite caseosa, caprinos.

INTRODUÇÃO

A caprinocultura no nordeste do Brasil é uma das principais atividades econômicas do pequeno produtor, tendo na linfadenite caseosa (LAC) um cruciante problema de sanidade. A LAC expande-se da Bahia até o Piauí, sendo considerada como a enfermidade infecciosa de maior prevalência entre os caprinos. Os prejuízos provocados são grandes, comprometendo a pele, a carcaça e os órgãos internos. É doença crônica que atinge o rebanho caprino e ovino em muitas partes do mundo e caracteriza-se pela formação de abscessos nos linfonodos, tendendo à generalização, o que debilita o animal. Resultados promissores alcançados com o emprego de vacinas para o controle da linfadenite caseosa vêm estimulando este meio como medida profilática eficaz. Contudo a maioria dos experimentos estão voltados para a doença em ovinos.

Cameron et al. (1972) avaliaram a eficiência de uma vacina inativada para a imunização de ovinos contra a linfadenite caseosa. A vacina foi elaborada a partir da cultura de *Corynebacterium pseudotuberculosis* em caldo enriquecido com 0,5% de extrato de levedura e 1% de hidrolizado de lactalbumina, incubada a 37°C durante 72 horas. A cultura foi inativada com 0,5% de formol durante 7 dias e adsorvida em gel de fosfato de alumínio. A concentração final de massa bacteriana foi de 0,5% ou 0,025 ml por dose de 5 ml. Verificaram maior proteção quando os animais foram revacinados 6 semanas após. O

¹ Aceito para publicação em 21 de setembro de 1987.

Trabalho financiado pelo convênio BID/Sudene/CNPq/Embrapa.

² Empresa de Pesquisa Agropecuária da Bahia (EPABA), Av. Ademar de Barros 967, Ondina, Salvador, Bahia 40000.

desafio foi feito através de infecção experimental, via intravenosa com 5×10^8 germes (dose subaguda), que a maioria dos ovinos vacinados resistiu e os testemunhos morreram.

Doze anos após, Cameron & Bester (1984) realizaram extensos experimentos em camundongos e confirmaram que a imunogenicidade de uma vacina contra a infecção por *C. pseudotuberculosis* não pode ser significativamente melhorada com o uso de vários adjuvantes. A imunidade não foi aumentada com a incorporação de imunostimulantes na vacina. Entretanto, a combinação de gel-hidróxido de alumínio e saponina como adjuvante teve um efeito benéfico. Esta vacina foi melhor tolerada, e uma dose, aparentemente, protegeu o ovino mais efetivamente que a vacina com precipitado de alumínio.

Nairn et al. (1982) julgam, baseado em seus experimentos, que a vacina constituída apenas de toxina inativada (toxóide) e adjuvante conferiu excelente proteção a ovinos em testes com desafio por *C. pseudotuberculosis* virulento. O mesmo parece acontecer nas condições a campo. Estudos preliminares com vacina a base de toxóide e adjuvante, aplicada em caprinos jovens não revelaram resultados tão satisfatórios como nos ovinos.

Brogden et al. (1984) observaram diminuição no número de abscessos desenvolvidos em ovinos submetidos a vacinação contra *C. pseudotuberculosis*, tanto quanto experimentaram uma preparação com células inteiras, como com uma outra, utilizando as paredes das células da bactéria. Após a vacinação, ambos os grupos foram submetidos ao desafio de *C. pseudotuberculosis* virulento. Foi comprovado que a imunidade induzida protegia significativamente os ovinos, quando comparados os resultados alcançados com os do grupo controle.

Brown et al. (1986) avaliaram a eficácia de uma exotoxina formolizada de *C. pseudotuberculosis* e com adjuvante incompleto de Freund. Após o desafio com *C. pseudotuberculosis* vivo, por via cutânea a proteção imunológica dos caprinos vacinados foi revelada pelo aumento de resposta em anticorpos humoral e celular e também pelo número reduzido de abscessos, restritos ao local da inoculação. No grupo controle (não vacinados e desafiados) foi observado, além da existência de abscessos disseminados, que os animais requeriam 21 dias para desenvolverem uma resposta sorológica positiva ao desafio.

Este trabalho foi realizado objetivando-se avaliar o comportamento de uma vacina morta contra linfadenite caseosa em caprinos mantidos em regime extensivo.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda Lagoa da Vaca, município de Uauá, Bahia, no período de outubro de 1981 a outubro de 1983. Foram utilizados 163 caprinos de ambos os sexos com idade entre 6 e 12 meses, divididos em três grupos com os seguintes tratamentos:

- A₁ - 54 caprinos vacinados de 6 em 6 meses;
- A₂ - 48 caprinos vacinados de 12 em 12 meses;
- A₃ - 61 caprinos testemunha.

Todos os animais foram submetidos ao regime extensivo de criação da propriedade, sendo feita a inspeção dos gânglios externos, antes da vacinação, não se observando a existência de abscessos. Todos os animais dos grupos A₁ e A₂ receberam 6 ml da vacina pela via subcutânea, dividindo-se a dose e aplicando-se

3 ml em cada região axilar. O grupo A₁ recebeu 6 ml da vacina, repetindo-se a dose a cada 6 meses, e o grupo A₂ foi revacinado com intervalo de 12 meses. Os animais ficaram sob observação durante 2 anos. A vacina foi elaborada pelo Laboratório de Bacteriologia da EPABA, a partir da cepa 1002 Curaçá de *C. pseudotuberculosis* isolada de abscesso de caprino cultivada em caldo tryptose enriquecido com lactalbumina e extrato de levedura, incubado a 37°C por 48 horas segundo Cameron et al. (1972). A massa bacteriana foi suspensa em soro fisiológico, para a determinação do volume celular, utilizou-se de tubos de Hoppkins na concentração de 0,65 a 0,70% de massa bacteriana. A inativação foi feita adicionando-se 0,5% de formaldeído, sendo o preparado deixado em temperatura ambiente por 7 dias. Após esse período, adicionando-se partes iguais do imuno-adjuvante, gel fosfato de alumínio. De todas as partidas de vacina elaborada, realizaram-se testes de esterilidade em gelose sangue, caldo tryptose, caldo simples, tioglicolato e Sabouraud, com incubação em estufa a 37°C por 48 horas. A prova de inocuidade constitui em inoculação de camundongos jovens e adultos, por via subcutânea, com 0,1 ml de vacina e inoculação de cobaias adultos pela mesma via, com 1,0 ml da suspensão inativada. Após 10 dias de observação, considerava-se inócua a vacina, quando os animais não apresentavam reação local.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao final do experimento, foram sacrificados e necropsiados todos os animais, visando-se a observação de lesões que caracterizassem a doença. A necropsia do grupo A₁ revelou que 14 animais apresentaram lesões discretas nos seguintes linfonodos: parotídeo (6 animais), pré-escapular esquerdo (3) e pré-escapular direito (5), e que 40 caprinos estavam sem lesões macroscópicas. No grupo A₂, nove animais apresentaram lesões comprometendo os seguintes linfonodos: parotídeo direito (2), parotídeo esquerdo (3), pré-escapulares (4) sendo que 39 caprinos não apresentaram lesões. O grupo testemunha (A₃) apresentou 44 animais com lesões acometendo os seguintes linfonodos: pré-escapular direito (13), parotídeos direito e esquerdo (13), mediastínicos (9), sub-maxilares (3), poplíteo (3), inguinais (1), retro-mamários. Deste grupo 17 animais não apresentaram lesões. Observou-se ainda que os animais do grupo testemunha (A₃) apresentaram lesões moderadas a severas e, em alguns casos, com comprometimento dos órgãos internos. Por outro lado, nos lotes de animais vacinados, estas lesões quando presentes eram discretas, restringindo-se a um máximo de três linfonodos. A análise estatística dos resultados macroscópicos permite afirmar que não houve diferença significativa entre tratamentos em que os animais foram vacinados com intervalo de 6 a 12 meses. No Quadro 1, encontram-se os resultados do efeito da vacina segundo o número de ocorrências de animais portadores (+) ou (-) da linfadenite caseosa, referentes aos três tratamentos. Os resultados foram submetidos à análise estatística não paramétrica.

Quadro 1. Tratamento e ocorrência da Linfadenite Caseosa em caprinos

Tratamentos	Total de animais no tratamento	Positivo de animais	Negativo de animais
Vacinados de 6 em 6 meses (A ₁)	54	14 (25,9%)	40 (74,1%)
Vacinados de 12 em 12 meses (A ₂)	48	09 (18,7%)	39 (81,2%)
Não vacinados, testemunha (A ₃)	61	44 (72,1%)	17 (27,9%)
Total	163	67	96

ca através do teste de quiquadrado e testes de estimativas para diferenças entre duas ou mais proporções.

Os limites de confiança das diferença entre proporções dos grupos vacinados, permitem afirmar com 95% de confiança, que a proteção determinada pela vacina contra a doença está experimentalmente compreendida entre 50 e 77%. Em conseqüência, pode-se admitir que a verdadeira eficácia da vacina não difere significativamente de 77%.

A percentagem de animais imunizados de 12 em 12 meses foi estimada em 81,25%, ligeiramente superior aos vacinados de 6 em 6 meses, que registrou proteção de 74,07%. Contudo, esta diferença não se tornou significativa pelo teste das proporções. Os limites de confiança das diferenças entre proporções dos grupos vacinados para não vacinados permitem afirmar com 95% de confiança, que a proteção determinada pela vacina contra a doença está experimentalmente compreendida entre 50 e 77%. A percentagem de casos positivos de linfadenite caseosa para o grupo de animais não vacinados ficou estimada de 60,88 a 83,38%. Cameron & Bester (1984) observaram que similarmente a administração de 3 doses de vacina em intervalo mensal em vez das costumeiras 2 doses, tem apenas uma pequena influência na resposta imunitária. Os títulos aglutinantes persistiam por um pequeno período no grupo que recebeu 3 injeções, mas em ambos os grupos os títulos estavam muito baixos até a 12ª semana e tinha retornado a níveis de pré-imunização na 16ª semana. A extensão do intervalo entre a primeira e segunda injeções de 4 a 6 semanas tinha um efeito benéfico nos títulos de aglutinação obtidos 2, 4 e 8 semanas, respectivamente, depois da segunda injeção. Mas apesar dos altos níveis obtidos, os títulos recuaram a níveis de pré-imunização na 16ª semana. A proteção determinada pela vacina contra a doença (69,34 – 85,56%), leva a admitir que existe resposta imunológica suficiente para proteger os caprinos. Cameron et al. (1972), estudando a resposta imune de ovinos a uma vacina contra *C. pseudotuberculosis*, concluíram que apesar de pequena proteção conferida, esta era suficiente para proteger animais contra os efeitos letais de infecção intravenosa. Cameron & Bester (1984), num experimento preliminar, avaliando comparativamente a imunogenicidade da vacina com precipitado de alumínio, da vacina contendo 0,15% de saponina de da vacina viva sem adjuvante, verificaram que a vacina viva foi superior às outras. Entretanto, a dosagem usada causou lesões nos locais de administração da vacina nos camundongos. Brogden et al. (1984) verificaram em condições experimentais, que vacinas contra a linfadenite caseosa, preparadas tanto com parede celular como com células inteiras, induzem resposta imunológica de considerável intensidade a julgar pelo menor número de abscessos pulmonares encontrados após desafio com bactérias vivas via endovenosa. É provável que o grau de proteção possa ser influenciado tanto pela dose de vacina

como pela adição de um adjuvante que estimule o sistema retículo-endotelial de caprinos contra *C. pseudotuberculosis*. Brown et al. (1986) determinaram, índices percentuais (80%) de animais com ausência de lesões bacterianas, nos grupos de caprinos vacinados-desafiados e no controle não vacinados, respectivamente. No mesmo estudo, verificaram que 90% dos animais vacinados desenvolveram altos títulos em anticorpos ($\geq 1:8$) uma semana após o desafio, enquanto 80% dos não vacinados eram soro-negativos aos 21 dias, nas mesmas condições. Apenas 2 de 10 dos caprinos vacinados desenvolveram abscessos quando desafiados com alta dose de *C. pseudotuberculosis*, e concluíram que a vacinação é capaz de estimular suficientemente a imunidade em situações naturais. Brown et al. (1986) revelaram que a vacina apresentou efeitos colaterais como depressão, manqueira, febre, reação no ponto de inoculação e diarreia em alguns caprinos.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nas condições em que se realizou este trabalho, permitem concluir que, o índice de proteção conferido pela vacina deve estar entre 50 e 77%. A vacina aplicada de 6 em 6 meses não determinou maior proteção imunológica à linfadenite caseosa do que quando aplicada anualmente. Animais não vacinados registraram aproximadamente 72% de casos positivos. Recomenda-se a vacinação de caprinos a partir de 4 meses de idade por via subcutânea, sendo 3 ml em cada região axilar em aplicações anuais.

Agradecimentos.- Os autores agradecem a valiosa colaboração do Prof. Moacyr Dunham de Moura Costa, da Dra. Maria Cristina Lima Freire e do Dr. Fernando Lopes Santiago Junior, bem como do D. João Albany Costa e da Auxiliar de Laboratório Joana Cardoso de Oliveira.

REFERÊNCIAS

- Brogden K.A., Cutlip R.C. & Lemkubl H.D. 1984. Comparison of protection induced in lambs by *Corynebacterium pseudotuberculosis* whole cell and cell wall vaccines. *Am. J. Vet. Res.* 45:2393-2395.
- Brown C.C., Olander H.J., Biberstein E.L. & Morse S.M. 1986. Use of a toxoid vaccine to protect against intradermal challenge exposure to *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Am. J. Vet. Res.* 47:1116-1119.
- Cameron C.M., Minnar J.L., Engelbrech M.M. & Purson R. 1972. Immune response of merino sheep to inactivated *Corynebacterium pseudotuberculosis* vaccine. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 39(1):11-24.
- Cameron C.M. & Fuls W.J.P. 1973. Studies on the enhancement of immunity to *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 40(3):105-113.
- Cameron C.M. & Bester F.J. 1984. An improved *Corynebacterium pseudotuberculosis* vaccine for sheep. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 51:263-267.
- Nairn M.E., Robertson J.P., Middleton H.D. & McQuada N.C. 1982. The possibility of control of caseous lymphadenitis in goats by vaccination. *Proc. Int. Conf. Goat Prod. Dis., Tucson, Arizona*, p. 455-457.

DISTÚRBIOS REPRODUTIVOS EM TOUROS *Bos indicus*, *B. taurus* E MESTIÇOS, CRIADOS EM CLIMA AMAZÔNICO¹

OTÁVIO M. OHASHI^{2,3}, JOSÉ S. SOUSA², HAROLDO F.L. RIBEIRO³, e WILLIAM G. VALE^{2,3}

ABSTRACT.- Ohashi O.M., Sousa J.S., Ribeiro H.F.L. & Vale W.G. 1988 [**Reproductive disturbances in *Bos indicus*, *B. taurus* and crossbred bulls, in the Amazon region.**] Distúrbios reprodutivos em touros *Bos indicus*, *B. taurus* e mestiços, criados em clima Amazônico. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 8(1/2):31-35. Centro de Ciências Biológicas, Univ. Fed. Pará, Campus Univ. Guamá, Belém, PA 66000, Brazil.

A total of 164 *Bos indicus* and crossbred maintained in extensive conditions and *B. taurus* bulls, in semi-extensive conditions, were submitted to at least three clinico-andrological examinations and semen collections using the electroejaculation method for semen evaluation. Ninety five (57.9%) of the bulls were of Nelore breed: 80 (84.2%) of them presented a normal reproductive status, but 4 (4.2%) showed testicular degeneration, 1 (1.1%) hypoplasia, 3 (3.2%) delayed sexual maturity, 3 (3.2%) seminal vesiculitis, 1 (1.1%) acrobustitis, 2 (2.1%) Brucellosis and 1 (1.1%) fibrosis in the epididymis. Among the *B. taurus* bulls, 29 (17.7%) of the Holstein Friesian type, 21 (72.4%) showed testicular degeneration and 1 (3.2%) fibrosis in the epididymis: in 11 (6.7%) crossed Holstein Friesian x Zebú, only 3 (27.3%) were normal, 7 (63.6%) had testicular degeneration, 1 (9.1%) total unilateral hypoplasia. Among 20 (12.1%) crossbred bulls (Chianina x Nelore) 13 (65.0%) were normal, 7 (35.0%) showed testicular degeneration. Among 9 (18.2%) Pitangueiras bulls (3/8 Red Danish x 5/8 Guzerá), 5 (55.6%) were normal, 1 (11.1%) showed testicular degeneration and 3 (33.3%) had delayed sexual maturity. Among the observations made by the clinico-andrological examination and the sperm picture, the volume, concentration, mass activity and impairment of the different parts of the genital system as well as sperm abnormalities were observed. In some cases, the bulls were slaughtered or castrated and the testis or other segments of the genital system were submitted to histological examination to confirm the diagnosis.

INDEX TERMS: Cattle, bovine reproduction, reproductive disturbance in the bull, diseases of the genital system of the bull, reproductive pathology.

SINOPSE.- Foram examinados um total de 164 reprodutores *Bos indicus* e mestiços, submetidos a manejo extensivo e, animais *B. taurus* e mestiços submetidos a manejo semi-intensivo, recebendo alimentação suplementar ao cocho. Os animais foram submetidos a mais de três exames clínico-andrológicos seguidos de colheita de sêmen pelo método de eletroejaculação, com a realização de espermiogramas. Dentre os animais examinados 95 (57,9%) eram da raça Nelore, sendo que 80 (84,2%) eram normais, 4 (4,2%) apresentavam um quadro de degeneração testicular, 1 (1,1%) com hiplasia bi-lateral total, 3 (3,2%) maturidade sexual retardada, 3 (3,2%) vesiculite, 1 (1,1%) acrobustite, 2 (2,1%) brucelose, 1 (1,0%) fibrose do epidídimo. De 29 (17,7%) animais *B. taurus* do tipo Holandês Preto e Branco, 21 (72,4%) apresentavam um quadro de degeneração testicular e 1 (3,4%) com fibrose do epidídimo. Dos animais mestiços com Holandês Preto e Branco, em 11 (6,7%) animais examinados somente 3 (27,3%), eram normais; em 7 (63,6%) foi detectado degeneração testicular e somente 1 (9,1%) hiplasia do tipo uni-lateral total. Dos 20 (12,2%) touros mestiços de Chianino x Nelore, 13 (65,0%) eram normais; 7 (35,0%) apresentavam degeneração testicular, e finalmente nos 9 (18,2%) touros Pitangueiras (3/8 Red Danish x 5/8 Guzerá), 5 (55,6%) apresentavam-se normais,

1 (11,1%) com um quadro de degeneração testicular e 3 (33,3%) com maturidade sexual retardada. Em alguns casos os animais foram submetidos ao abate ou castração, tendo os testículos e outras partes do sistema genital submetidos a processamento histológico e examinados ao microscópio para confirmação dos diagnósticos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Bovinos, reprodução em bovinos, distúrbios reprodutivos no touro, doenças do sistema genital do touro, patologia da reprodução.

INTRODUÇÃO

Uma das funções orgânicas que sofrem marcada influência do meio ambiente é a reprodução, principalmente em animais oriundos de clima frio ou temperado a alta temperatura e umidade ambiental. Kelly & Hurst (1963) e Thatcher (1974), observaram que a alta temperatura ambiental influencia a capacidade reprodutiva tanto do touro como da vaca. Este aspecto é de fundamental importância para áreas de clima tropical úmido face às dificuldades naturais impostas a animais utilizados para produção de leite, uma vez que os mesmos são oriundos quase sempre de raças tradicionalmente de clima ameno. Na Amazônia, já tem sido investidas vultosas quantias em programas governamentais e de particulares, sem que ainda fossem implantados rebanhos desses ecótipos a nível regional, demonstrando claramente a incapacidade

¹ Aceito para publicação em 5 de outubro de 1987.

² Este trabalho contou com o apoio do Banco da Amazônia S/A.

³ Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Campus Universitário do Guamá, Belém, Pará 66000.

³ Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, Cx. Postal 917, Belém, Pará 66000.

dos mesmos se reproduzirem. Muitos experimentos têm sido conduzidos mostrando a influência da temperatura sobre a atividade reprodutiva, com relação ao macho em particular sobre a função testicular, em touros (Lagerlof 1934, Casady et al. 1953, Austin et al. 1961, Gerona & Sires 1970, Ross & Entwistle, 1979) em carneiros (Moore & Oslund 1924, Glover 1955, Moule & Waites 1963, Mucciolo et al. 1974), em suínos (Wetterman et al. 1976, Stone 1982) e em coelhos (Zoog et al. 1968, Ploen 1972, 1973), entretanto o mecanismo pelo qual a temperatura afeta a função testicular ainda é desconhecida, embora pareça ser causado pela hipoxia que acomete o testículo quando o mesmo é exposto à alta temperatura (Waites & Setchell 1964) a qual também pode afetar o metabolismo dos espermatozoides presentes no testículo (Voglmayr et al. 1970).

MATERIAL E MÉTODOS

Os animais examinados pertenciam a fazendas localizadas entre 2º latitude sul e 48º longitude oeste com temperatura média de 26°C (± 10) e umidade relativa do ar de 85%. Os animais *Bos indicus* e alguns mestiços (1/2 Chianina e Pitangueiras) eram submetidos a manejo extensivo. Com relação aos *B. taurus* e os mestiços de holandês; eram submetidos a um manejo semi-intensivo, com alimentação a base de concentrado uma vez ao dia.

Foram examinados ao todo 164 animais (Quadro 1) os quais foram submetidos a exames clínico geral, com especial ênfase ao sistema genital. O sêmen foi obtido através de eletroejaculação, momento em que esfregaços eram feitos para coloração através de carbo-fucsina, para observação de defeitos de morfologia do espermatozoide; e amostra de 1 a 3 gotas de sêmen era conservada em solução de formol salino tamponado para observação dos defeitos estruturais, sob microscopia de contraste de fase. A classificação das patologias espermáticas e interpretação do espermograma foi realizado segundo Rao (1971) e Blom (1972).

Após 1º exame clínico-andrológico, os animais *B. indicus* que apresentaram alteração no sistema genital ou com quadro espermático apresentando altos níveis de patologia espermática, foram submetidos a três exames adicionais, com intervalos de 15 dias, para acompanhamento do quadro espermático e confirmação do diagnóstico. Os animais *B. taurus* e mestiços foram submetidos a exames com intervalos de 1 mês, por um período de um ano, durante o qual foi acompanhada a evolução dos distúrbios reprodutivos, especialmente a degeneração testicular.

Amostras para exame histológico de alguns animais, após sacrifício ou castração, foram colhidas para confirmação dos diagnósticos, as quais foram fixadas em solução de Bouin por 24 horas, locadas em blocos de parafina e coradas pela hematoxilina-eosina (HE).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Degeneração testicular

Observa-se pelo Quadro 1, que os animais *Bos indicus* apresentaram um baixo índice desta alteração, comparativamente com os animais *B. taurus* e mestiços, nos quais a degeneração testicular se constituiu em uma das principais alterações, o que caracteriza a sensibilidade e inadaptabilidade desses animais às condições climáticas do trópico úmido, fato já salientado por Skinner & Louw (1966). Roberts (1971), Garcia (1971) e Vale Filho et al. (sd). Apesar dos animais *B. indicus* apresentarem degeneração testicular, a intensidade do processo degenerativo foi leve (Quadro 2), quando comparado com os animais taurinos e mestiços, que apresentaram quadro degenerati-

Quadro 1. Distribuição das freqüências de alterações encontradas nos 164 animais examinados, de acordo com o tipo racial

Alteração	Nelore	HPB ^a	Mestiço HPB	Mestiço Chianina	Pitangueiras ^b
Normal	80(84,2%)	7(24,1%)	3(27,3%)	13(65%)	5(55,5%)
Degeneração testicular	4(4,2%)	21(72,4%)	7(63,6%)	7(35,0%)	1(11,1%)
Hipoplasia	1(1,1%)	-	1(9,1%)	-	-
Maturidade sexual retardada	3(3,2%)	-	-	-	3(33,3%)
Vesiculite	3(3,2%)	-	-	-	-
Acrobustite	1(1,1%)	-	-	-	-
Brucelose	2(2,1%)	-	-	-	-
Fibrose do epidídimo	1(1,1%)	1(3,4%)	-	-	-
Total	95	29	11	20	9

^a HPB = Holandês Preto e Branco;

^b Pitangueiras = 3/8 Red Danish x 5/8 Guzerá.

vo de moderado a grave (Fig. 1), onde 11 animais *B. taurus* desenvolveram azoospermia devido o processo ter culminado em fibrose testicular. Este fato parece confirmar a opinião de Kumi-Diaka & Zemjanis (1978) e Kumi-Diaka et al. (1981), os quais afirmam que o stress térmico não possui efeito adverso significativo sobre a espermatogênese dos animais zebuínos.

As causas que contribuem para esta alteração não está totalmente esclarecida. Segundo Hafez (1963) alta temperatura pode possivelmente ocasionar um hipofuncionamento da porção anterior da hipófise, entretanto, Gomes et al. (1971) observaram que em carneiros a alta temperatura ambiental afeta significativamente a função das células de Leydig causando consequentemente uma diminuição nos níveis de testosterona e aumento nos níveis de gonadotrofinas. Dunlap & Vicent (1971) e Thatcher (1974) citam que o stress térmico em vacas, leva a desequilíbrio endócrino, afetando consequentemente a reprodução. Além deste fato, parece haver a ação local da temperatura ocasionando alteração no mecanismo de termo-regulação testicular, como foi demonstrado por Lagerlof (1934), Casady et al. (1953), Austin et al. (1961), Gerona & Sires (1970), Roberts (1971), Ross & Entwistle (1979), afetando a espermatogênese, bem como a atividade metabólica e a estrutura do espermatozoide, principalmente durante sua passagem pelo epidídimo (Brown-Woodman et al. 1976, Rathore 1970).

Ao exame histológico dos testículos de alguns animais azoospermicos foram observados túbulos seminíferos apresentando diferentes graus de processo degenerativo, que variavam desde a presença de espessamento da membrana basal e vacuolização citoplasmática das células da linhagem espermática, até a presença de completa fibrose dos túbulos seminíferos (Fig. 2).

Inflamação das glândulas vesiculares

A incidência de 3,2% de inflamação das glândulas vesiculares assemelham-se aos resultados observados por McEntee (1962) que após exames de 343 touros *B. taurus* detectou 4,66% dessa alteração, sendo entretanto superiores aos achados em *B. indicus*, citados por Valle Filho et al. (sd), Garcia (1971) e Vale Filho et al. (1981), e inferiores aos dados reportados por Nascimento et al.

Quadro 2. Distribuição da frequência dos parâmetros dos espermogramas observados, de acordo com o tipo de racial

	Nelore		HPB		Mestiços	
	X	Amp. var.	X	Amp. var.	X	Amp. var.
Volume	9,1	7 - 11	6,9	0,9 - 20,5	4,5	2,5 - 8,0
Concentração	433.471	315.000 - 985.000	217.375	0 - 515.000	217.000	0 - 670.000
Turbilhamento	2,8	1 - 5	0	0 - 2	1,3	0 - 5
Motilidade	53,9	45 - 80	47,8	0 - 70	56,8	0 - 80
Vigor	2,9	1 - 5	2,8	0 - 4	2,8	0 - 5
Anomalias de cabeça	8,8	7 - 10	38,6	12 - 76,5	44,1	75 - 78
Anomalias de acrossoma	0	0	12,4	1 - 44,5	3,6	0 - 16
Anomalias de peças intermediárias	3,5	2,5 - 4,5	4,5	0,5 - 16,5	2,2	0 - 8
Anomalias de cauda	20,0	12 - 32,5	10,4	1,0 - 33,0	7,4	0 - 13,5
G C P ^a	6,3	5 - 7,1	10,8	2,0 - 34,0	15,5	3 - 61
G C D ^b	1,0	0 - 1,5	0,5	0 - 2	2,1	0 - 8
Pouch formation	0	0	7,8	1 - 22,0	4,8	0 - 51
Outros elementos	0	0	CLE - M ^c		0	0
Defeitos maiores	16,8	13 - 19,5	65,9	11 - 119	60,7	21 - 120
Defeitos menores	37,3		18,4	7 - 37,0	13,1	1 - 34

^a Gota citoplasmática proximal;

^b Gota citoplasmática distal;

^c Células da linhagem espermiática - medusa.

(1981). Segundo Jubb & Kennedy (1970) a inflamação das glândulas vesiculares parece ser uma das alterações inflamatórias mais importantes que afeta o touro, principalmente onde a brucelose é endêmica. Os animais do presente estudo foram submetidos ao teste de aglutinação rápida para brucelose, utilizando-se plasma seminal e soro sanguíneo, com resultados negativos em ambos os testes.

Dos animais com inflamação das glândulas vesiculares apenas um apresentou floculação purulenta no ejaculado, concordando com os achados de Galloway (1964), Blom (1979), Garcia (1971), diferindo entretanto dos achados de Carrol et al. (1968), os quais afirmam que a floculação purulenta é um aspecto sempre observado no sêmen do touro com esta alteração. A ausência de secreção purulenta no ejaculado dos animais examinados deve-se provavelmente à cronicidade do processo inflamatório.

Ao exame macroscópico foi observado aumento da glândula afetada, com aumento das lobulações, e aderência difusa com comprometimento das ampolas dos condutos deferentes (Fig. 4). O exame histológico revelou áreas de necrose com proliferação de tecido conjuntivo fibroso e infiltrado leucocitário, com predominância de linfócitos.

Maturidade sexual retardada

A maturidade sexual retardada ocorreu somente nos animais zebuínos da raça pitangueira. Esta alteração parece ser relativamente freqüente em animais zebuínos fato já salientado por Garcia (1971) e Vale Filho et al. (sd), provocada principalmente por nutrição deficiente durante a fase de desenvolvimento do animal, resultando consequentemente em atraso na puberdade (Vandemark et al. 1964).

Hipoplasia testicular

A hipoplasia testicular ocorreu em baixo percentual, sendo observada somente em um animal zebuíno e em um

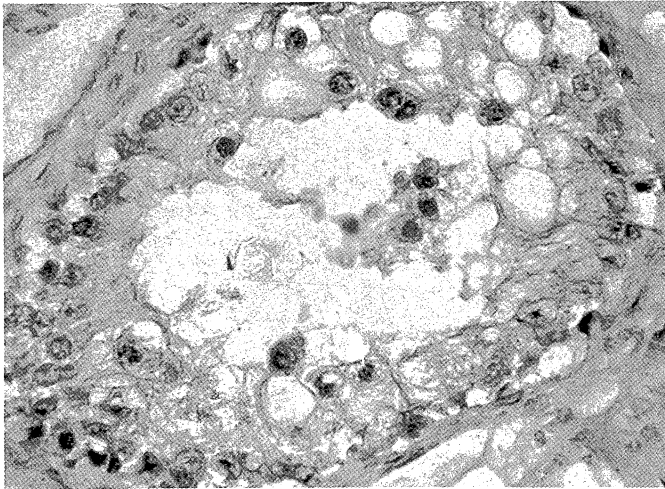
mestiço (Quadro 1). No primeiro caso era do tipo bilateral total, enquanto no segundo era do tipo unilateral total. Apesar do baixo percentual desta alteração, a sua presença alerta para o fato de que esta enfermidade genética está presente no rebanho regional e que este aspecto deve ser observado com cautela durante a avaliação de um reprodutor para evitar a disseminação do gen, uma vez que trata-se de um problema de caráter hereditário.

Ao exame histológico dos testículos, observou-se os túbulos seminíferos diminuídos de diâmetro, apresentando apenas células de Sertoli com núcleos basais e com citoplasma projetando-se para o interior do túbulo, fazendo com que os mesmos apresentassem lúmen diminuído (Fig. 3). Segundo Jubb & Kennedy (1971) em caso de hipoplasia testicular total é observado o espessamento da membrana basal do túbulo seminífero. Este fato não foi observado no presente estudo, onde a membrana basal dos túbulos seminíferos com esta alteração apresentava-se limitada por uma única camada de células alongadas.

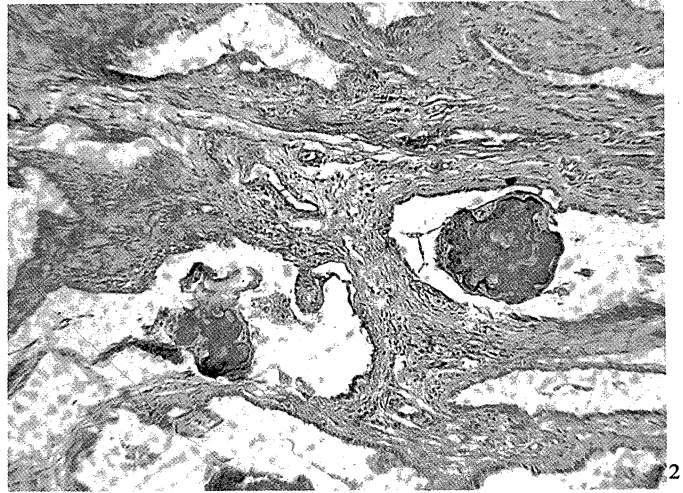
Fibrose do epidídimo e acrobustite

A fibrose do epidídimo ocorreu em apenas um animal *B. taurus* cujo espermograma apresentava alta incidência de alterações de cauda do espermatozóide, sendo entretanto de causa desconhecida. Com relação a acrobustite, foi observada em apenas um animal *B. indicus*. Segundo Roberts (1971) e Morrow (1980) esta alteração é relativamente freqüente em raças zebuínas que apresentam a bainha prepucial pendulosa.

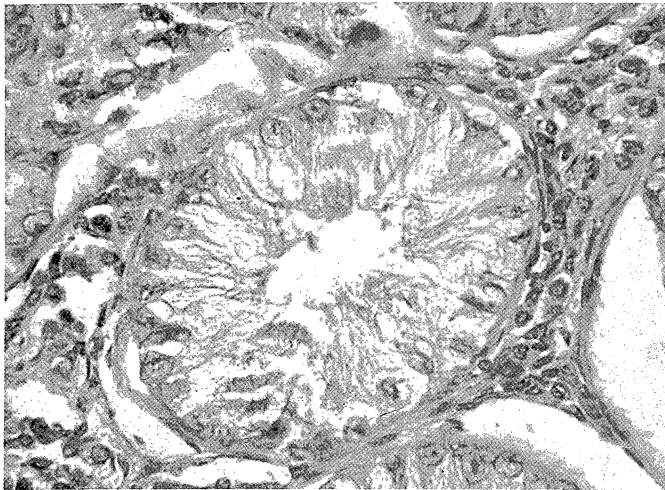
A bainha prepucial pendulosa é uma característica que deve ser considerada como um fator que pode levar a comprometimento da capacidade reprodutiva de um animal, uma vez que um processo inflamatório nesta estrutura pode posteriormente dificultar a cópula por aparecimento de fimose provocada pela constrição do óstio prepucial.



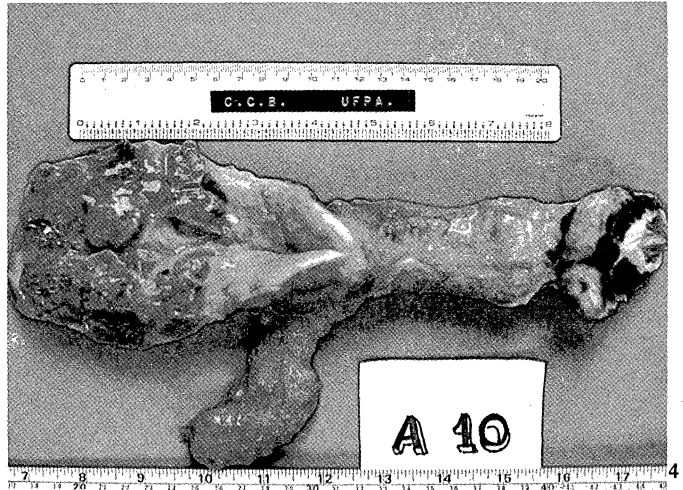
1



2



3



4

Fig. 1. Túbulo seminífero com vacuolização citoplasmática das células da linhagem espermática. Touro Nelore. HE, obj. 40.

Fig. 3. Hipoplasia testicular total, com presença somente de células de Sertoli no túbulo seminífero. Touro Nelore. HE, obj. 40.

Fig. 2. Avançado processo de fibrose com mineralização de túbulo seminífero. Touro Nelore. HE, obj. 40.

Fig. 4. Inflamação da glândulas vesiculares de touro Nelore.

CONCLUSÕES

Apesar dos animais zebuínos apresentarem um número mais variado de distúrbios reprodutivos, estes distúrbios parecem não afetar significativamente a eficiência reprodutiva desses animais, uma vez que tais alterações ocorreram em baixo percentual, entretanto, em animais taurinos e mestiços, apesar de apresentarem um menor número de distúrbios, os mesmos foram de alta frequência, principalmente aqueles influenciados pelas condições do meio, evidenciado dessa forma a sensibilidade e inadaptabilidade desses animais para as condições de clima tropical úmido.

Entretanto, além do fator temperatura x umidade influenciando a eficiência reprodutiva, deve-se também levar em consideração os fatores nutricionais, visto que quase sempre as pastagens em áreas tropicais são de inferior qualidade, principalmente durante a estação seca.

REFERÊNCIAS

- Austin J.W., Hupp E.W. & Murphere R.L. 1961. Effect of scrotal insulation on semen of Hereford bulls. *J. Anim. Sci.* 20(2):307-310.
- Ball L., Grinner L.A. & Carrol E.J. 1964. The bovine seminal vesiculitis syndrome. *Am. J. Vet. Res.* 25(105):291-301.
- Ball L., Young S. & Carrol E.J. 1968. Seminal vesiculitis syndrome: lesions in the genital organs of young bulls. *Am. J. Vet. Res.* 29(6):1173-1184.
- Blom E. 1972. The ultrastructure of some characteristics sperm defects and a proposal for a new classification of bull spermogram, p. 42. *In: Proc. Simposio Internazionale di Zootecnia, Milano.*
- Blom E. 1979. Studies on vesiculitis in bull. I. Semen examination methods and postmortem findings. *Nord. Vet. Med.* 31:193-205.
- Brown-Woodman P.D.C., Mohri H., Darin-Bannett A., Shorey C.D. & White I.G. 1976. Metabolic and ultrastructural changes in ejaculated spermatozoa induced by heating the testis of rams. *J. Reprod. Fertil.* 45:501-502.
- Carrol E.J. 1968. Vesiculitis in young beef bulls. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 155(12):1749-1757.
- Casady R.B., Myers R.M. & Legates J.E. 1953 The effect of exposure to

- high ambient temperature on spermatogenesis in the dairy bulls. *J. Dairy Sci.* 36(1):14-23.
- Dunlap S.E. & Vicent C.K. 1971. Influence of postbreeding thermal stress on conception rate in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 32(6):1216-1218.
- Galloway D.B. 1964. A study of bull with the clinical signs of seminal vesiculitis. *Acta Vet. Scand.* 5, Suppl. 2. 122p.
- Garcia O.S. 1971. Características físicas e morfológicas do sêmen de touros normais e touros com distúrbios reprodutivos de raças européias e indianas, criadas no estado de Minas Gerais. Tese, Esc. Vet. Univ. Fed. Minas Gerais, Belo Horizonte. 61 p.
- Gerona G.R. & Sires J.D. 1970. Effects of elevated scrotum temperatures on spermatogenesis and semen characteristics. *J. Dairy Sci.* 53(6):659.
- Glover T.D. 1955. The effects of short period of scrotal insulation on the semen of the ram. *J. Physiol.* 128:22.
- Gomes W.R., Butler W.R. & Johnson A.D. 1971. Effects of elevated ambient temperature on testis and blood levels and in vitro biosynthesis of testosterone in the ram. *J. Anim. Sci.* 33(4):804-807.
- Hafez E.S.E. 1963. Ecology and fertility, p. 7-26. In: *Congr. Int. Repr. Anim. e Fec. Art.*, Trento.
- Jubb K.V.F. & Kennedy P.C. 1970. *Pathology of Domestic Animals*. Vol. 1. 2nd ed. Academic Press, New York.
- Kelly J.W. & Hurst V. 1963. The effect of season on fertility of dairy bulls and dairy cow. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 143(1):40-43.
- Kumi-Diaka J., Nagaratnam V. & Rwuuan J.S. 1981. Seasonal and age related changes in semen quality and testicular morphology of bulls in a tropical environment. *Vet. Rec.* 3:13-15.
- Kumi-Diaka J. & Zemjanis R. 1978. Seasonal variation in spermatogenesis in bulls indigenous to Nigeria. *Br. Vet. J.* 134:537-540.
- Lagerlof N. 1934. Morphologische Untersuchungen ueber Veraenderungen im Spermabild und in den Hoden bei Bullen mit verminderter oder aufgehobener Fertilitaet. *Acta Pathol. & Microbiol. Scand.* Suppl. XIX 254p.
- McEntee K. 1962. Seminal vesiculitis in bull. *Proc. 66th U.S. Livestock Sanit. Assoc.*, Washington.
- Moore C.R. & Oslund R. 1924. Experiments on the sheep testis cryptorchidisms, vasectomy and scrotal insulation. *Am. J. Physiol.* 67:595.
- Morrow D. 1980. *Current Therapy in Theriogenology*. W.B. Saunders, Philadelphia. 1287p.
- Moule G.R. & Waites G.M.H. 1963. Seminal degeneration in the ram and its relation to the temperature of the scrotum. *J. Reprod. Fertil.* 5:433-446.
- Mucciolo R.G., Banabe R.C. & Barnabe V.H. 1974. Variações no quadro espermático de carneiros submetidos a degeneração testicular experimental. *Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP* 11:155-177.
- Nascimento E.F., Maia P.C.C., Chquiloff M.A.G. & Nogueira R.H. 1981. Alterações testiculares e epididimárias em bovino. II. Degeneração testicular e cistos intra-epiteliais no epidídimo. *Arqs Esc. Vet. UFMG.*, Belo Horizonte, 33(3):407-412.
- Ploen L. 1972. An electron microscopic study of the immediate effects on spermateliosis of a short-time experimental cryptorchidism in the rabbit. *Virchows Arch., Abt. B. Zellpath.*, 10:293-309.
- Ploen L. 1973. An electron microscopic study of delayed effects on rabbit spermateliosis experimental cryptorchidism for twenty-four hours. *Virchows Arch., Abt. B. Zellpath.* 14:159-184.
- Rao A.R. 1971. Changes in the morphology of sperm during their passage through the genital tract in bulls with normal and impaired spermatogenesis. Thesis, Royal Veterinary College, Stockholm. 88p.
- Rathore A.K. 1970a. Morphological changes in ram spermatozoa due to hot room for varying periods. *Br. Vet. J.* 126(6):277-281.
- Rathore A.K. 1970b. Acrossomal abnormalites in ram spermatozoa due to heat stress. *Br. Vet. J.* 126(8):440-443.
- Roberts S.J. 1971. *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases*. 2nd ed. Edward Brothers, Ithaca. 776p.
- Ross A.D. & Entwistle K.W. 1979. The effect of scrotal insulation on spermatozoa morphology and the rates of spermatogenesis and epididymal passage of spermatozoa in the bull. *Theriogenology* 11(2):11-129.
- Skinner J.D. & Louw G.N. 1966. Heat stress and spermatogenesis in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. *J. Appl. Physiol.* 21(6):1784-1790.
- Stone B.A. 1981. Heat induced infertility of boars: The inter-relationship between depressed sperm output and fertility and an estimation of the critical air temperature above which sperm output is impaired. *Anim. Reprod. Sci.* 4:283-299.
- Thatcher W.W. 1974. Effects of season, climate and temperature on reproduction and lactation. *J. Dairy Sci.* 57:360-368.
- Waites G.M.H. & Setchell B.P. 1964. Effect of local heating on blood flow and metabolism in the testis of the conscious ram. *J. Reprod. Fertil.* 8(1):339-349.
- Wettemann R.P., Wells M.E., Omtvedt I.T. & Pope C.E. 1976. Influence of elevated ambient temperature on reproduction performance of boars. *J. Anim. Sci.* 42(3):664-669.
- Wettemann R.P. & Desjardins C. 1979. Testicular function in boars exposed to elevated ambient temperature. *Biol. Reprod.* 20(2):235-241.
- Vale Filho V.R., Pinto P.A., Fonseca J. & Soares L.C. (sd). *Patologia do sêmen*. II Prêmio Dow de Veterinária. São Paulo. 549p.
- Vale Filho V.R., Megale F., Abreu J.J., Pinto P.A. & Fonseca J. 1981. Distúrbio da reprodução em touros Nelore, Gir, Guzerá, Indubrasil, comparativamente com touros das raças Holandesas, Charolês e Chianina criados nas mesmas condições, p. 8. In: *Proc. Simp. Nac. Reprod. Animal*, Belo Horizonte.
- Vandemark N.L., Fritz, G.R. & Mauger R.E. 1964. Effect of energy intake on reproductive performance of dairy bulls. II. Semen production and replenishment. *J. Dairy Sci.* 47:898-904.
- Voglmayr J.K., Hinks N.T., White I.G. & Setchell B.P. 1970. The effect of heating the testis on the metabolism of testicular spermatozoa and the testis fluid. *J. Reprod. Fertil.* 21:365-366.
- Zoog C.A., Hays R.L., Vandemark N.L. & Johnson D.A. 1968. Effect of duration of experimental cryptorchidism on testis composition and metabolic activity. *Am. J. Physiol.* 215(4): 985-990.

BOTULISMO ENZOÓTICO EM BÚFALOS NO MARANHÃO¹

JEROME LANGENEGGER² e JÜRGEN DÖBEREINER²

ABSTRACT.- Langenegger J. & Döbereiner J. 1988. [Enzootic botulism of water buffaloes in Maranhão, Brazil.] Botulismo enzoótico em búfalos no Maranhão. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 8(1/2):37-42. Embrapa-UAPNPSA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851, Brazil.

A clinical diagnosis of enzootic botulism of water buffaloes and the characteristics of the probable predisposing conditions in the northern lowland region of the State of Maranhão are described. In this region buffaloes graze on lowland pastures together with cattle and horses during the dry season. Botulism occurred in approximately 10% of the buffaloes that existed in the area during the dry season at the end of the years 1978 and 1979. Affected buffaloes showed motor incoordination and flacid paresis, and the disease usually had a protracted course, generally leading to death. Initially, animals had difficulty walking, with the forelegs being more severely affected, resulting in the tips of the hooves being dragged along the ground. These buffaloes also experienced difficulties lying down and getting up. As the disease progressed, the animals remained lying down in either the sternal-abdominal position or on their sides, depending on the intensity of the flacid muscular paresis. However, psychic reflexes remained normal. There were no gross post-mortem lesions or histopathological changes in one buffalo necropsied, which could reveal the nature of the clinical signs. It has been speculated that the numerous stagnant water holes existing in the area in which the buffaloes wallow and drink during the dry season, contain the botulinus toxin responsible for the outbreaks. Cattle and horses, reared together with the buffaloes, do not utilize these water holes and have not been seen to develop clinical signs. Because of technical difficulties, no attempt was made to demonstrate the presence of the botulinus toxin in either the affected animals or the water holes.

INDEX TERMS: Botulism, buffaloes, enzootic outbreak, clinical diagnosis.

SINOPSE.- Foi descrito o diagnóstico clínico de botulismo enzoótico de búfalos e caracterizadas as condições ecológicas predisponentes, na baixada maranhense, no norte do Estado do Maranhão. Nesta região são mantidos, coletivamente, durante o período de estiagem, búfalos, bovinos e eqüídeos. O botulismo ocorreu, em aproximadamente 10% dos búfalos, durante o período seco, no final dos anos de 1978 e 1979, e caracterizou-se por incoordenação motora com paresia flácida e lenta evolução para a morte da maioria dos animais. Os sintomas clínicos incipientes externavam-se por certos distúrbios da locomoção, principalmente na movimentação dos membros anteriores e a flexão da articulação carpal, assim que as pinças roçavam o solo ao andar. Os animais afetados mostravam insegurança ao deitar e tinham dificuldade ao se levantar. Com a evolução da doença, os búfalos doentes permaneciam deitados, em decúbito esterno-abdominal ou lateral dependendo da intensidade da paresia flácida da musculatura de relação, porém os reflexos psíquicos ainda estavam normais. Búfalos doentes não conseguiam sair da água. Os achados de necropsia não revelaram lesões macro e microscópicas que justificassem o quadro clínico. A fonte de contágio de botulismo foi atribuída às inúmeras poças d'água estagnadas que se formavam, anualmente, durante o período de estiagem e nas quais os búfalos se banhavam. Ao contrário, os bovinos e eqüinos que, não se utilizando desta água estagnada, não morreram. Por dificuldades técnicas não pôde ser comprovada a presença da toxina botulínica.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Botulismo, búfalos, surto enzoótico, diagnóstico clínico.

INTRODUÇÃO

O botulismo dos animais apresenta-se sob forma enzoótica ou epizoótica, em várias partes do mundo, em decorrência de condições ecológicas especiais. Estas, direta ou indiretamente, criam fatores circunstanciais que desencadeiam o surto da doença. No caso de botulismo dos bovinos criados extensivamente em pastagens carentes de fósforo, o fator predisponente é a deficiência deste mineral no solo que leva os animais ao curioso hábito de roerem ossos de cadáveres como meio de suprir a falta de fósforo do organismo. Esta carência se acentua nas vacas em gestação e em lactação. Por outro lado, sabe-se que o esporo de *Clostridium botulinum* é encontrado ubiqüitariamente em todos os continentes e se mantém no solo, mesmo em pequenas concentrações, por muitos anos. Com os alimentos, o esporo passa, em geral, inofensivamente pelo tubo digestivo do animal vivo, mas em qualquer cadáver encontra condições de desenvolver-se e produzir toxinas porque a flora aeróbica do tubo digestivo consome o oxigênio e cria a necessária anaerobiose no interior do cadáver recoberto pelo couro. Ossos, cartilagens, tendões e aponevroses que resistem à decomposição do cadáver ficam impregnados com a toxina e ricamente contaminados pelos esporos. Nesta circunstância, o bovino, ao ingerir fragmentos de tecidos ou roendo ossos, é vítima da toxina botulínica e o novo cadáver se torna tóxico porque também havia ingerido, com a toxina, os esporos, estabelecendo assim a cadeia epidemiológica. Esta forma de botulismo epizoótico do bovino já foi descrita na África

¹ Aceito para publicação em 14 de outubro de 1987.

² Unidade de Apoio ao Programa Nacional de Pesquisa em Saúde Animal, Embrapa, 23851 Seropédica, Rio de Janeiro.

do Sul (Theiler 1902), na Austrália (Seddon 1922), no Texas, Estados Unidos da América (Schmidt 1916), na Turquia (Pamukcu 1954) e no Senegal, África (Calvet et al. 1965).

No Brasil, o botulismo epizootico dos bovinos foi registrado no Estado do Piauí (Tokarnia et al. 1970), no cerrado do Brasil-Central (Langenegger & Döbereiner 1980, Langenegger et al. 1983), em Goiás e na Ilha de Marajó (Moreira 1980) e no Rio Grande do Sul (Langenegger et al. 1984, Turnes et al. 1984).

O botulismo epizootico das aves aquáticas silvestres tem sua origem relacionada com prolongadas estiagens, em épocas quentes e em regiões alagadas, onde estas aves vivem e se alimentam da água e dos produtos aquáticos. Estas condições ecológicas adversas provocam a redução da circulação e o empocamento d'água em locais restritos. Estas águas paradas concentram maior quantidade de matéria orgânica que, quando auxiliado pela alta temperatura, facilmente se decompõe. Na água estagnada a oxigenação se reduz e, além disso, a flora aeróbia do lodo, no fundo das poças, consumindo oxigênio, criam condições anaeróbias a ponto de permitir que esporos de *Clostridium botulinum*, ali presentes, passem a se desenvolver e produzirem toxinas e, assim, esta água estagnada se constitui em fonte de intoxicação botulínica. Grandes mortandades de aves aquáticas silvestres causadas por esta forma epizootica de botulismo já foram assinaladas na região ocidental dos Estados Unidos (Giltner & Couch 1930, Gunnison & Coleman 1932, Kalmbach & Gundersen 1934), em Michigan, EUA (Kaufmann & Fay 1964), no Canadá (Shaw & Simpson 1930), na Austrália (Pullar 1934, Rose 1934, Farleigh 1949, Grubb 1964), nos países Nórdicos (Nilehn & Johansen 1965), na Inglaterra (Blandford et al. 1969), na Holanda (Haagsma et al. 1971), na Nova Zelândia (Martinovich et al. 1972) e na África do Sul (Hay et al. 1973). No Brasil foram comprovados casos esporádicos de botulismo em aves por Brada et al. (1971), Saraiva (1978) e por Schonhofen & Garcia (1981).

Na literatura por nós compulsada não foi encontrada nenhuma referência sobre casos esporádicos nem de formas epizooticas de botulismo em búfalos.

DESCRIÇÃO DO SURTO DE BOTULISMO EM BÚFALOS

Local e fatores predisponentes

Nos municípios de Pinheiros e São Bento, no norte do Estado do Maranhão, próximo ao litoral, há uma grande área plana, também designada por baixada maranhense que pode ser considerada o estuário do Rio Pinheiros. Esta planície permanece parcialmente coberta por água durante os meses de fevereiro a setembro, época das chuvas. A lâmina d'água, na maioria desta área alagada, não atinge um metro de altura. Isto permite que a gramínea nativa "capim marreca" (*Parathia prostrata*) se desenvolva dentro d'água, proporcionando excelente forragem para a criação de búfalos ali iniciada há vários anos. No período de outubro a dezembro, às vezes até janeiro, anualmente, com falta de chuvas em toda a região norte do Estado, a longa estiagem provoca gradual baixa das águas e a transformação da baixada numa pastagem firme e verde,

mas ainda permanecem, entremeadas, centenas de poças d'água (Fig. 1 e 2). Enquanto isto, as áreas vizinhas, mais elevadas já estão secas e com falta d'água. Os bovinos e eqüinos dos fazendeiros ali existentes, convergem para a planície e se misturam com os, aproximadamente, 500 búfalos que também pertencem a vários proprietários e então vivem coletivamente na área, formando um grande rebanho com mais de 1.000 animais. A medida que a estiagem se acentua, muitas poças secam, outras tem reduzida a sua quantidade d'água agora estagnada, poluída, embora na parte central da baixada, acumulam-se maiores volumes d'água, no suposto antigo leito do Rio Pinheiros. Chamou a atenção de que os búfalos se banham no lodo das poças quase secas e nas com água estagnada das quais os bovinos e eqüinos não se aproximam para beber água, provavelmente pelo aspecto e mau cheiro.

Histórico da doença dos búfalos

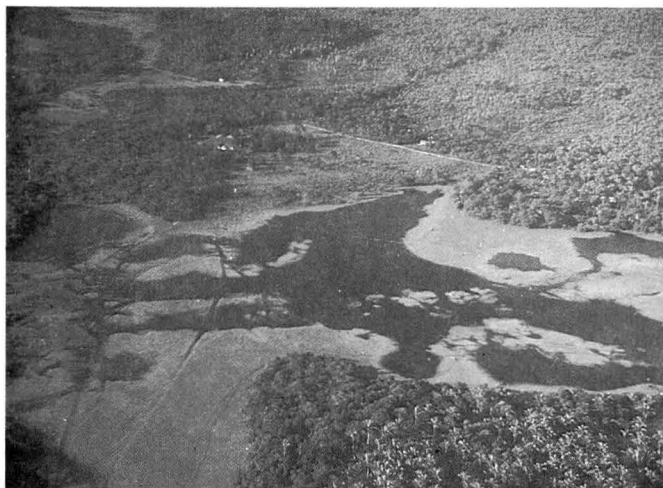
Segundo o relato dos criadores, a doença dos búfalos é observada desde fins de 1976, ao final de uma grande estiagem e sua incidência estaria aumentando cada ano mais. Ela aparece no final do mês de novembro, mas a maioria dos animais adocece e morre no mês de dezembro e ainda no mês de janeiro se as chuvas retardam. Onde há campos relativamente mais secos a incidência da doença é maior e onde tem mais água não existe o problema. Calcula-se que cerca de 10% dos búfalos tenham morrido em 1978 e 1979. Por outro lado, teria sido insignificante o número de mortes entre bovinos e eqüinos durante a estada destes na baixada. Segundo os proprietários, os búfalos mostram andar estranho, ficam deitados, costumam levantar-se e quase todos morrem.

Sintomas dos búfalos

Foram examinados 12 búfalos doentes, sendo seis com sintomas incipientes. Dois deles chamaram a atenção porque ficaram afastados do lote que se deslocava naturalmente; andavam alguns passos e paravam sem motivo aparente. Vistos de perto notou-se certa incoordenação no andar, mormente, ao locomover os membros anteriores. Notava-se, nitidamente, que a articulação carpal era pouco flexionada e com isto as pinças dos cascos roçavam o solo em quase cada passo (Fig. 3). Os dois búfalos acompanhavam, com acentuada movimentação lateral da cabeça, a passagem do peso do corpo de um membro anterior para outro, quando executavam passos. Estavam em bom estado nutricional e psiquicamente normais.

Uma búfala foi encontrada em decúbito esterno-abdominal e não conseguia manter a cabeça levantada. A anamnese mostrou que já estava doente há 12 dias e deitada há 5 dias. O animal ainda movimentava um pouco os membros e a cabeça ao tentar se levantar. Não conseguiu mais repor naturalmente a língua quando exteriorizada (Fig. 4). Os reflexos sensitivos, aparentemente, estavam bem, pois o animal acompanhava as pessoas com o olhar e espantava as moscas movimentando as pálpebras. Não tinha febre e o estado de nutrição era regular. Este animal foi sacrificado para realização de necropsia.

Uma garrota búfala foi encontrada em decúbito esterno-abdominal, aparentemente sadia. Forçada a levantar-se, ela permanecia e andava sobre a articulação carpal, tanto assim que já tinha acentuadas escaras nos dois car-



1



2



3

Fig. 1. A baixada maranhense, no município de Pinheiros, permanece parcialmente coberta por água durante os meses de fevereiro a setembro, época das chuvas.

Fig. 3. Búfalo doente, com incoordenação no andar.



4

Fig. 2. No período de estiagem, outubro/janeiro, formam-se na baixada centenas de poças d'água, onde os búfalos se banham.

Fig. 4. Uma búfala, em decúbito esternal, não conseguiu mais re-
por a língua quando esteriorizada.

pos. A anamnese revelou que este animal adoecerá há 28 dias, tendo como sintomas certa dificuldade de andar e por isto ficava quase sempre deitado. Movido pela fome começou a procurar pasto andando sobre os carpos. O dono passou a alimentá-lo e por isto estava em boas condições nutricionais.

Outra búfala foi encontrada em decúbito esterno-abdominal; ela se alimentava nesta posição do capim em volta sem se levantar.

Outros 3 búfalos foram encontrados numa pequena lagoa boiando tranqüilamente (Fig. 5). Os proprietários informaram que os animais estão doentes e não conseguem andar, por isto estão sendo tratados (alimentados) neste "hospital". Dois dos búfalos foram retirados da água. Um deles, que tinha adoecido um mês e meio atrás, andou com passos lentos, parando várias vezes, mas voltando logo á água (Fig. 6 e 7). O outro animal, doente há mais de três semanas, apesar de bom estado de nutrição, não conseguiu levantar-se mais, apresentando paresia da cauda e dos membros (Fig. 8 a 10).

Uma búfala que adoecera aproximadamente há 5 semanas atrás, foi vista em recuperação, andando ainda com dificuldade, de dorso arqueado e com os membros posteriores postos para frente, embaixo do ventre, como para tirar o peso dos membros anteriores (Fig. 11 e 12).

Achados de necropsia

Foi necropsiada a búfala, doente há 12 dias e deitada há 5 dias, em decúbito lateral, que, além das escaras de decúbito, não revelou alterações macroscópicas que pudessem afastar o diagnóstico de botulismo. A boa contestura óssea das costelas e a gravidez da búfala, com um feto de aproximadamente 2 meses, não deixavam suspeitar carência crônica de fósforo. Os exames dos esfregaços de sangue puderam afastar uma possível infecção por *Trypanossoma*. A raiva também foi excluída através do teste biológico em animais de laboratório. Os preparados histológicos dos órgãos revelaram, no entanto, acentuada hemossiderose que pode ser atribuída a deficiência de cobre, mas que não justifica o quadro clínico.



5



6



7



8



9



10

Fig. 5. Três búfalos doentes, boiando numa pequena lagoa onde estão sendo alimentados.

Fig. 7. O animal mostrado na Fig. 6 tenta voltar logo à água.

Fig. 9 O animal da Fig. 8 mostra paralisia dos membros.

Fig. 6. Um dos búfalos tirados da água, ainda conseguiu andar com dificuldade.

Fig. 8. Outro búfalo, doente há mais de 3 semanas, tirado da água, não conseguiu levantar-se mais, apesar do bom estado de nutrição.

Fig. 10 O animal das Fig. 8 e 9 mostra, além de paralisia da cauda, escaras na pele, adquiridas antes de entrar na água ("hospital").



Fig. 11. *Búfala que adoeceu há 5 meses atrás, está em recuperação, andando ainda com dificuldade.*



Fig. 12. *O animal da Fig. 11, em recuperação, anda com os membros posteriores postos para frente, para aliviar o peso dos dianteiros.*

As necropsias de alguns búfalos dos cerca de 50 animais que morreram, também não revelaram achado dignos de nota, segundo informações dos médicos veterinários do Serviço de Defesa Sanitária Animal do Estado do Maranhão.

Diagnóstico

O conjunto dos dados disponíveis permite firmar o diagnóstico de botulismo dos búfalos e, como provável fonte de intoxicação foi considerada a água estagnada das poças da área alagada.

DISCUSSÃO

As evidências epizootiológicas mostraram que a longa estiagem e o clima quente da região anteriormente alagada, desencadearam o surto de botulismo dos búfalos, porque estes animais têm o costume e a necessidade de banhar-se em qualquer água empoçada ou lama, ocasião em que também, eventualmente, bebem desta água, mormente numa área seca. A utilização de inúmeras poças d'água ou de lama destas foi comprovada. Os búfalos, ao entrarem e se banharem nas poças, removem a água e o lodo do fundo onde se pode desenvolver *Clostridium botulinum* com produção de toxina botulínica. Mesmo que os búfalos não bebam água destas poças, a intoxicação é possível pela absorção da pele e das mucosas oral, nasal, prepucial ou vaginal, mesmo se for por doses subletais, desde que múltiplas, como demonstraram Loftsgard et al. (1970).

A presença em número aproximadamente igual, de bovinos e eqüinos, na mesma área, durante o período da estiagem, sem que estes adoecessem com sintomas de botulismo, também indica que a fonte de intoxicação foi a água estagnada das poças, porque os bovinos e eqüinos evitam entrar em lodaçais e recusam beber água com material em decomposição.

O surto de botulismo dos búfalos na baixada maranhense teve sua origem em condições ecológicas adversas semelhantes às que ocorrem com o botulismo epizootico das aves aquáticas e silvestres, como foi visto na introdu-

ção do presente trabalho. A fonte de intoxicação do botulismo do búfalo difere da do botulismo epizootico dos bovinos cuja causa primária é a afosforose e que não foi observada nos búfalos da baixada em Pinheiros. Na literatura há, menções, assinalando a água como fonte de intoxicação botulínica esporádica de bovinos. Pamukcu (1954) na Turquia, ao descrever casos de botulismo em bovinos, menciona que a doença parece ser mais prevalente quando a água é baixa e estagnada. Doutré (1969) faz referência a mortes de eqüinos, asininos, bovinos e ovinos por botulismo após beberem água de uma fonte contaminada com cadáver de gato em decomposição e em outra com o de um esquilo, demonstrando a presença de toxina na água.

No surto de botulismo dos búfalos não foi demonstrado a presença de toxina, por dificuldades técnicas. Os búfalos encontrados doentes apresentavam quadros de intoxicações leves com longos períodos de evolução da doença e nestes casos a presença de toxina botulínica no soro sanguíneo ou no conteúdo do tubo digestivo, não é detectável salvo com métodos especiais de extração e concentração (Sonnenschein & Bisping 1976) não disponíveis em nosso laboratório. A pesquisa da toxina, na água das inúmeras poças existentes seria um método indireto de comprovar a causa do botulismo dos búfalos. Este trabalho não foi tentado pelas seguintes razões: a) o número de poças na região era muito grande e isto só permitiria examinar uma amostragem, e se o resultado desta fosse negativo, não excluiria de que numa ou noutra poça, mesmo já dissecada, houvesse a presença de toxina; b) como a evolução da doença dos búfalos era lenta, indicando intoxicação com pequena quantidade de toxina, era de se supor que a quantidade de toxina presente nas poças também fosse pouca, o que também dificultaria a sua detecção pelo método biológico através da inoculação em animais de laboratório; c) a execução de exames das amostras d'água no local era impossível e a coleta e transportes para São Luiz ou Rio de Janeiro também seria por demais problemática, considerando-se a reduzida possibilidade de ser demonstrada a presença de toxina botulínica.

Como a provável fonte de intoxicação botulínica era a água estagnada, foi recomendada a vacinação de todos búfalos, anualmente, no início da estiagem, ou seja, no mês de setembro, com uma revacinação 6 a 8 semanas após, nos animais primovacinaados. Esta imunoterapia preveniu satisfatoriamente a ocorrência do botulismo até 1987.

Passados 10 anos, por ocasião da forte estiagem de 1987/88, verificou-se o recrudescimento da mortandade de búfalos na baixada maranhense, cujos quadros clínicos registrados em reportagem televisinada fizeram lembrar os do botulismo.

REFERÊNCIAS

- Blandford T.B., Roberts T.A. & Ashton W.L.G. 1969. Losses from botulism in mallard duck and other water fowl. *Vet. Rec.* 85:541-543.
- Brada W., Langenegger J. & Langenegger C.H. 1971. Botulismo em aves no Estado do Rio de Janeiro. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.* 6:27-32.
- Calvet H., Picart P., Doutre M.P. & Chambron J. 1965. Aphasphorose et botulisme au Sénégal. *Revue Elev. Méd. Vét. Pays Trop.* 18:249-282.
- Doutre M.P. 1969. Incidence of animal botulism contracted from water in Sénégal. *Revue Elev Méd. Vét. Pays Trop.* 22:29-31.
- Farleigh E.A. 1949. Botulism in wild birds. *Yb. Inst. Insp. Stk. N.S. Wales*, p. 101-102.
- Giltner L.T. & Couch J.F. 1930. Western duck sickness and botulism. *Science* 72:660.
- Grubb W.B. 1964. Avian botulism in Western Australia. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 42:17-26.
- Gunnison J.B. & Coleman G.E. 1932. *Clostridium botulinum* type C associated with Western duck disease. *J. Infect. Dis.* 51:542-551.
- Hay M.E., Made H.N. & Knoetze P.C. 1973. Isolations of *Clostridium botulinum* type C from an outbreak of botulism in wild geese. *J.S. Afr. Vet. Med. Ass.* 44:53-56.
- Haagsma J., Over H.J., Smit T. & Hoekstra J. 1971. Botulism in waterfowl in 1970 in the Netherlands. *Tijdschr. Diergeneesk.* 96:1072-1094.
- Kalmbach E.R. 1930. Western duck sickness produced experimentally. *Science* 72:658-660.
- Kaufmann O.W. & Fay L.D. 1964. *Clostridium botulinum* type E toxin in tissues of dead loons and gulls. *Quart. Bull. Mich. Agric. Exp. Stn* 47:236-242.
- Langenegger J. & Döbereiner J. 1980. Fatores predisponentes dos surtos de botulismo no cerrado de Goiás. *Anais 17º Congr. Bras. Med. Vet., Fortaleza*, p. 16.
- Langenegger J., Döbereiner J. & Tokarnia C.H. 1983. Botulismo epizootico em bovinos no Brasil. *Agroquímica Ciba-Geigy, São Paulo*, (20):22-26.
- Langenegger J., Scarsi R.M., Martins E.S., Azambuja L.L.A., Helena P.A.S. & Barros C.L. 1984. Mal de Alegrete: epidemiologia, clínica e patologia. *Anais 19º Congr. Bras. Med. Vet., Belém*, p. 208.
- Loftsgard G., Yndestad M. & Helgebostad A. 1970. Cumulative effect of repeated doses of *Clostridium botulinum* toxin in mice and mink. *Canad. Vet. J.* 11:227-231.
- Martinovich M., Carter E., Woodhouse D.A. & McCausland I.P. 1972. An outbreak of botulism in wild waterfowl in New Zealand. *N.Z. Vet. J.* 20:61-65.
- Moreira E.C., Lima J.D. & Leite R.C. 1980. Botulismo no Sul de Goiás e Marajó. *Anais XVII Congr. Bras. Med. Vet., Fortaleza*, p. 24.
- Nilehn P.O. & Johansen A. 1965. An outbreak of avian botulism. *Nord. Vet. Med.* 17:685-692.
- Pullar E.M. 1934. Enzootic botulism amongst wild birds. *Aust. Vet. J.* 10:128-135.
- Pamucku A.M. 1954. Hemorrhagic encephalomyelitis due to botulism in cattle in Turkey. *Zentralbl. Vet. Med.* 1:707-722.
- Rose A.L. 1934. Enzootic botulism amongst wild birds. *Aust. Vet. J.* 10:175-177.
- Saraiva D. 1978. Botulismo do tipo C em galinhas no Rio Grande do Sul. *Revta Centro Ciênc. Rurais, Sta. Maria*, 8(2):153-159.
- Schmidt H.A. 1916. Loin disease of cattle in the costal plains of Texas. *Texas Agric. Exp. Stn Annual Report*.
- Schonhofen C.A. & Garcia R.G.F. 1981. Ocorrência de botulismo em *Netta peposaca* (pato selvagem) e *Dencrocygna viaduata* (irerê). *Arqs. Biol. Tecnol., Curitiba*, 24(4):433-435.
- Seddon H.R. 1922. Bulbar paralysis in cattle due to a toxigenic bacillus. *J. Comp. Pathol. Therap.* 35:147-190.
- Shaw R.M. & Simpson G.S. 1936. *Clostridium botulinum* type C in the relation to duck sickness in the province of Alberta. *J. Bacteriol.* 32:79-88.
- Sonnenschein B. & Bisping W. 1976. Extraktion und Anreicherung von *Clostridium botulinum*-Toxinen aus dem Untersuchungsmaterial. *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkunde Infektionskr. Abt. 1, Orig. Reihe A*, 234:247-259.
- Theiler A. 1920. The cause and prevention of lamsiekte. *J. Dep. Agric. South Africa* 1:221-224.
- Tokarnia C.H., Langenegger J., Langenegger C.H. & Carvalho E.V. 1970. Botulismo em bovinos no Piauí, Brasil. *Pesq. Agropec. Bras.* 5:465-472.
- Turnes C.G., Langenegger J. & Scarsi R.M. 1984. "Mal de Alegrete": evidências de *Clostridium botulinum* D como agente etiológico. *Anais 19º Congr. Bras. Med. Vet., Belém*, p. 138.