

ISSN 0100-736X

Volume 12 Números 3/4
Jul/Dez 1992

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Brazilian Journal of Veterinary Research



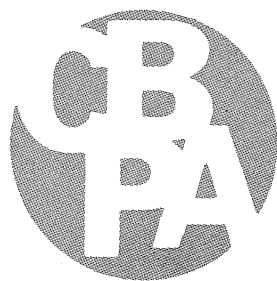
Revista do Colegio Brasileiro de Patologia Animal

ISSN 0100-736X

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Brazilian Journal of Veterinary Research

VOLUME 12, 1992



Revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

– uma revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal
A Brazilian Journal of Veterinary Research published by the Brazilian College of Animal Pathology

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

Editorial Policy

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

Editor: Jürgen Döbereiner, *Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970, Brasil.*

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

Assessoria Científica (Advisory Board)

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

A revista é editada dentro do

Programa de Apoio a Publicações Científicas

SCT/PR



CNPq



FINEP

em colaboração com o
Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ

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

Editorial Policy

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

Conselho Editorial (Editorial Board)

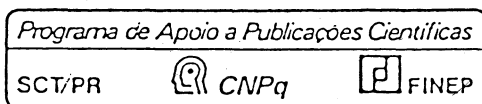
Editor: Jürgen Döbereiner. Editores Adjuntos: Severo Sales de Barros, Osmane Hipólito, Jerome Langenegger, Hugo Barboza de Rezende, Adayr Mafuz Saliba, Jefferson Andrade dos Santos, Carlos Hubinger Tokarnia.

Assessoria Científica (Advisory Board)

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

A correspondência referente à publicação de trabalhos e a outros assuntos técnico-científicos editoriais deve ser endereçada ao (All editorial communications, including typescripts, should be addressed to) Dr. Jürgen Döbereiner, Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970 (Brasil); Tel. (021) 682-1081, 682-1082; Telex 21-32723 EBPA BR; Fax (021) 682-1230.

A revista é editada dentro do



em colaboração com o
Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ

Figura da capa: Lesão peridentária da “cara inchada” em bezerro desmamado, com exposição parcial das raízes dos dentes Pd₃ e Pd₄ maxilares e epitelização da área afetada, caracterizando a cura clínica da periodontite, como acontece após a transferência do animal para uma região indene ou administração oral de Virginiamicina (Tims et al., p. 77).

Cover illustration: Periodontal lesion of “Cara inchada” in a weaned calf, with partially exposed roots of maxillar teeth (Pd₃ and Pd₄) and healing of the affected area. Clinical recovery occurs either when these animals are transferred to a healthy region where the disease is absent or after oral administration of Virginiamycin (Tims et al., p. 77).

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

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

CDD 636.089

CDU 619:616(81)(05)

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

— uma revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal
A Brazilian Journal of Veterinary Research published by the Brazilian College of Animal Pathology

Volume 12

Julho/Dezembro 1992

Números 3/4

SUMÁRIO

Influência da mastite sobre as características físico-químicas do leite de cabra. <i>G.C. Barros & C.H.S. Leitão</i>	45-48
Intoxicação experimental por <i>Baccharis megapotamica</i> var. <i>megapotamica</i> e var. <i>weirii</i> (Compositae) em coelhos. <i>C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto, A. Gava & J. Döbereiner</i>	49-64
Tipos de colônia e características bioquímicas de culturas de <i>Clostridium chauvoei</i> isoladas de bovinos no Brasil. <i>F.G.F. Lima</i>	65-69
Determinação da etiologia de granulomas actinomicóides em bovinos no Rio Grande do Sul através da histoquímica. <i>R.D.N. Weiss & M.N. Santos</i>	71-76
Eficiência da Virginiamicina na recuperação de bezerros com a doença peridentária “cara inchada”. <i>F.M. Tims, I.S. Dutra, T. Matsumoto & J. Döbereiner</i>	77-80
Atividade abortiva de <i>Atelesia glazioviana</i> (Leg. Papilionoideae) em ratas. <i>H.R.N. Marona, A. Langeloh & E.P. Schenkel</i>	81-83

CONTENTS

Influence of mastitis on the physic-chemical features of goats' milk. <i>G.C. Barros & C.H.S. Leitão</i> .	45-48
Experimental poisoning by <i>Baccharis megapotamica</i> var. <i>megapotamica</i> and var. <i>weirii</i> (Compositae) of rabbits. <i>C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto, A. Gava & J. Döbereiner</i>	49-64
Colony types and biochemical characteristics of <i>Clostridium chauvoei</i> isolated from cattle in Brazil. <i>F.G.F. Lima</i>	65-69
Histochemical diagnosis of actinomycotic-like granulomas in cattle from southern Brazil. <i>R.D.N. Weiss & M.N. Santos</i>	71-76
Efficiency of Virginiamycin for the recovery of calves from the periodontal disease “Cara inchada”. <i>F.M. Tims, I.S. Dutra, T. Matsumoto & J. Döbereiner</i>	77-80
Abortion caused by <i>Atelesia glazioviana</i> (Leg. Papilionoideae) in rats. <i>H.R.N. Marona, A. Langeloh & E.P. Schenkel</i>	81-83

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Os trabalhos, em original e *uma* cópia, escritos em português ou inglês, devem ser enviados ao Dr. Jürgen Döbereiner, Revista PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, Colégio Brasileiro de Patologia Animal, 23851 Seropédica, Rio de Janeiro. Devem constituir-se de resultados ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

j) a lista de *Referências*, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando os nomes de todos os autores, o título de cada publicação e, por extenso ou abreviado, o nome da revista ou obra, usando as intruções de "Normalização da Documentação no Brasil" (IBICT-ABNT), "Style Manual for Biological Journals" (American Institute for Biological Sciences) e/ou "Bibliographic Guide for Editors and Authors" (American Chemical Society, Washington, D.C.).

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

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

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

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

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

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

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

f) a lista das referências deverá ser apresentada com o mínimo de pontuação e isenta do uso de caixa alta, sublinhando-se apenas os nomes científicos, e sempre em conformidade com o padrão adotado no último número da revista, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. As *figuras* (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) deverão ser apresentadas em tamanho maior (cerca de 150%) do que aquele em que devam ser impressas, com todas as letras ou sinais bem proporcionados para assegurar a nitidez após a redução para o tamanho desejado; parte alguma da figura será datilografada; a chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura; desenhos deverão ser feitos com tinta preta em papel branco liso ou papel vegetal, vedado o uso de papel milimetrado; cada figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte superior da figura; fotografias deverão ser apresentadas em branco e preto, em papel brilhante, e sem montagem, ou em diapositivos ("slides") coloridos; somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras será em cores; para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope.

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

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

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

SUMÁRIO
List of Contents

Vol. 12, Nos. 1/2, Jan./Jun. 1992

Intoxicação experimental por <i>Prunus sellowii</i> (Rosaceae) em bovinos. [Experimental poisoning of cattle by <i>Prunus sellowii</i> (Rosaceae).] <i>A. Gava, L. Stolf, D.S. Neves, O. Stolf, M.S. Varaschim & E.M.M. Ferreira</i>	1-4
Evolução clínica e reversibilidade das lesões da calcinose enzoótica dos ovinos induzida por <i>Nierembergia veitchii</i>. [Clinical course and reversibility of enzootic calcinosis caused by <i>Nierembergia veitchii</i> in sheep.] <i>S.S. Barros, D. Driemeier, M.N. Santos & J.A.M. Guerreiro</i>	5-10
Potencial abortivo e infertilizante de plantas brasileiras contaminantes ocasionais de pastagens de bovinos e outros herbívoros de interesse econômico. [Abortive and infertilizing potential of Brazilian plants which casually contaminate pasture of cattle and other grazing animals of economical interest.] <i>A. Langeloh, F. Maidana-Leguizamón & P. Dalsenter</i>	11-18
Intoxicação experimental por <i>Baccharis megapotamica</i> var. <i>megapotamica</i> e var. <i>weirii</i> (Compositae) em bovinos. [Experimental poisoning of bovines by <i>Baccharis megapotamica</i> var. <i>megapotamica</i> and var. <i>weirii</i> (Compositae).] <i>C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto, A. Gava & C.S.L. Barros</i>	19-31
Intoxicação experimental por <i>Senecio oxyphyllus</i> (Compositae) em bovinos. [Experimental poisoning in cattle by <i>Senecio oxyphyllus</i> (Compositae).] <i>D. Driemeier & C.S.L. Barros</i>	33-42
First stage larvae per 15 ml (L_1 15 ml⁻¹) calf faeces for the diagnosis of nematode parasites ante mortem. <i>R.K. Reinecke & A.H. Fonseca</i>	43-44

Vol. 12, Nos. 3/4, Jul./Dez. 1992

Influência da mastite sobre as características físico-químicas do leite de cabra. [Influence of mastitis on the physic-chemical features of goats' milk.] <i>G.C. Barros & C.H.S. Leitão</i>	45-48
Intoxicação experimental por <i>Baccharis megapotamica</i> var. <i>megapotamica</i> e var. <i>weirii</i> (Compositae) em coelhos. [Experimental poisoning by <i>Baccharis megapotamica</i> var. <i>megapotamica</i> and var. <i>weirii</i> (Compositae) of rabbits.] <i>C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto, A. Gava & J. Döbereiner</i>	49-64
Tipos de colônia e características bioquímicas de culturas de <i>Clostridium chauvoei</i> isoladas de bovinos no Brasil. [Colony types and biochemical characteristics of <i>Clostridium chauvoei</i> isolated from cattle in Brazil.] <i>F.G.F. Lima</i>	65-69
Determinação da etiologia de granulomas actinomicóides em bovinos no Rio Grande do Sul através da histoquímica. [Histochemical diagnosis of actinomycotic-like granulomas in cattle from southern Brazil.] <i>R.D.N. Weiss & M.N. Santos</i>	71-76
Eficiência da Virginiamicina na recuperação de bezerras com a doença peridontária "cara inchada". [Efficiency of Virginiamicin for the recovery of calves from the periodontal disease "Cara inchada".] <i>F.M. Tims, I.S. Dutra, T. Matsumoto & J. Döbereiner</i>	77-80
Atividade abortiva de <i>Ateleia glazioviana</i> (Leg. Papilionoideae) em ratas. [Abortion caused by <i>Ateleia glazioviana</i> (Leg. Papilionoideae) in rats.] <i>H.R.N. Marona, A. Langeloh & E.P. Schenkel</i>	81-83

ÍNDICE DOS AUTORES

Author Index

Barros C.S.L. 19, 33	Maidana-Leguizamón F. 11
Barros G.C. 45	Marona H.R.N. 81
Barros S.S. 5	Matsumoto T. 77
Dalsenter P. 11	Neves D.S. 1
Döbereiner J. 49, 77	Peixoto P.V. 19, 49
Driemeier D. 5, 33	Reinecke R.K. 43
Dutra I.S. 77	Santos M.N. 5, 71
Ferreira E.M.M. 1	Schenkel E.P. 81
Fonseca A.H. 43	Stolf L. 1
Gava A. 1, 19, 49	Stolf O. 1
Guerrero J.A.M. 5	Tims F.M. 77
Langeloh A. 11, 81	Tokarnia C.H. 19, 49,
Leitão C.H.S. 45	Varaschim M.S. 1
Lima F.G.F. 65	Weiss R.D.N. 71

XIV Congresso Panamericano de Ciências Veterinárias, Acapulco, México, maio de 1994

(Informações: Dr. Diódoro Batalla C., Colegio de Médicos Veterinarios y Zootecnistas de México, Km 15.5 Carretera México-Toluca, Palo Alto, 05110 México, DF, México. Fax (52-5) 570-0682)

INFLUÊNCIA DA MASTITE SOBRE AS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE DE CABRA¹

GLÊNIO CAVALCANTI DE BARROS² e CARLOS HENRIQUE S. LEITÃO³

ABSTRACT.- Barros G.C. & Leitão C.H.S. 1992. [Influence of mastitis on the physico-chemical features of goats' milk.] Influência da mastite sobre as características físico-químicas do leite de cabra. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 12(3/4):45-48. Depto Epidemiologia e Saúde Pública, Inst. Veterinária, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, 23851-970 Seropédica, RJ, Brazil.

Milk samples from three goat breeds (Dusk Alpine, Saanem and Toggenburg) with milk production averaging 2.66 kg/day and from crossbred goats were examined during 12 months for physico-chemical features. The results for individual milk and the mixture were respectively: density 1,030.5 and 1,033.5 at 15°C; acidity 15.67 and 15.84°D; average percentage of fat 4.00 and 4.1%; total dry extract 12.42 and 12.95%; fatty dry extract 8.83 and 8.73%; cryoscopic indexes -0.569 and -0.585°C. The average percentage of chlorides was normal (0.21 and 0.19%); lactose 3.27 and 3.42%; caseine (PTN) 2.68 and 2.52%; total proteins (PTN) 3.59 and 3.43%. The results obtained with milk from goats with mastitis showed the following alterations caused by experimental infection by *Staphylococcus aureus*: lowered values for density (1,022.5 and 1,023.0 at 15°C) and acidity (14.50 and 6.1°D); increased values for chlorides (0.34 and 0.39%); and reduced values for lactose (1.00 and 1.12%).

INDEX TERMS: Goat, physico-chemical features of milk, experimental mastitis by *Staphylococcus aureus*.

SINOPSE.- Amostras de leite de cabras de três raças selecionadas (Parda Alpina, Saanem e Toggenburg) com produtividade média de 2,66 kg/dia e amostras de leite de cabras mestiças, foram examinadas durante 12 meses, quanto às características físico-químicas, obtendo-se limites para o leite individual e de mistura, respectivamente, relativos à densidade entre 1.030,5 a 1.033,5 a 15°C; a acidez entre 15,67 e 15,84°D; aos percentuais médios de gordura 4,00 e 4,1%; ao extrato seco total entre 12,42 e 12,95%; ao extrato seco desengordurado entre 8,83 e 8,73%; aos índices crioscópicos entre -0,569 e -0,585°C. As médias anuais referentes a porcentagem de cloretos se apresentaram dentro de limites discretamente acima da normalidade (0,21 e 0,19%); a lactose entre 3,27 e 3,42%; a caseína (PTN) entre 2,68 e 2,52% e o PTN total entre 3,33 e 3,43%. O leite proveniente de cabras com mastite, provocada experimentalmente com *Staphylococcus aureus*, apresentou alterações quanto à densidade (1.022,5 a 1.023,0 a 15°C) e acidez (6,1° a 14,50°D); cloretos bastante aumentados (0,39 e 0,34%), e a lactose com valores bastante reduzidos (1,00 e 1,12%).

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Cabra, características físico-químicas do leite, mastite experimental por *Staphylococcus aureus*.

INTRODUÇÃO

A composição química e o valor nutritivo do leite de cabra tem sido estudado por vários autores nacionais e estrangeiros e comprovado o seu valor como alimento, bem como enfatizado o uso deste para pacientes com intolerância ao leite bovino (Parkash & Jennes 1968, Spreer 1975, Castro 1979, Steling & Souza 1987, Furtado 1987, Houts 1968, Larson 1968).

Os fatores que contribuem para a variação da composição química do leite de cabra, segundo Larson (1978), Wilkinson (1987) e Wolfshoon-Pombo (1978), são: raça, estágio da lactação, clima e estado nutricional da fêmea. As características físico-químicas são também modificadas pela mastite, determinando inclusive, diminuição na produção e estabelecendo limitações para o uso do leite.

Segundo El-Naggar (1973) a pesquisa de cloretos em leite de vaca é um método rápido e sensível para o diagnóstico da mastite. As médias anuais referentes aos percentuais de cloretos no leite de vaca normal, segundo Hipolito et al. (1965) variam entre 0,08 e 0,14%. Segundo Amaral et al. (1988) os valores médios de cloretos no leite de vacas sem mastite variam entre 0,15 no início da lactação e 0,22% no final.

O California Mastitis Test (CMT) é bastante utilizado para detectar a mastite em cabras, mesmo que os

¹ Aceito para publicação em 17 de outubro de 1991.

² Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 23851-970 Seropédica, RJ.

³ Laboratório de Controle de Alimentos de Origem Animal e Rações da Universidade Federal Fluminense, Av. Maracanã 252, Rio de Janeiro, RJ 20271-110.

sintomas clínicos da inflamação não estejam presentes, desde que a contagem celular esteja acima de 1×10^6 cels/ml (Wilkinson 1987, Guimarães 1990).

Considerando a legislação pertinente, pouco esclarecedora em relação ao leite de cabra, objetivou-se neste trabalho, verificar as possíveis variações dos padrões regulamentares, de acordo com o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) e a influência que a mastite experimental por *Staphylococcus aureus* pode proporcionar no leite de cabra.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante o período de junho de 1989 a junho de 1990, foram colhidas 48 amostras de leite de mistura, provenientes de um rebanho com 240 cabras das raças Parda Alpina, Toggenburg e Saanem, pesando entre 55 e 65 kg e com 3 a 5 anos de idade. Os animais pertenciam a um criatório próximo à cidade de Nova Friburgo e se caracterizavam pela produtividade de raças selecionadas. As amostras foram transportadas sob refrigeração.

As médias de produção variaram de acordo com o período: de junho a setembro de 1979 (2,7 kg/dia), de outubro de 1989 a março de 1990 (3,1 kg/dia) e de abril a junho de 1990 (2,2 kg/dia). O regime intensivo de criação permitiu um planejamento quanto à alimentação. As cabras em lactação, em média 80 cabras, recebiam 400g de ração por dia, composta de: proteína bruta 20%, milho moído 15,8%, farelo de trigo 14,6%, farelo de soja (com 45% de proteínas) 29,2%, calcário (com 37% de cálcio) 1,5%, fosfato de cálcio (com 37% de fósforo) 1,5%, sal grosso moído 1,5% e complexo vitamínico 0,5%. Após as ordenhas, pela manhã e à tarde, as fêmeas recebiam o volumoso (80% de napier e 20% de guandú, calopogônio, rami e confrei).

No mesmo período foram colhidas 48 amostras de leite individual de cabras mestiças das raças Parda Alpina e Saanem que se caracterizam pela produtividade, pesando entre 45 e 55 kg e ambas com 5 anos de idade, pertencentes ao Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. As médias de produção dessas fêmeas oscilaram no período entre 1,5 e 2,5 kg/dia. Os animais foram mantidos em regime semi-extensivo

(pasto durante o dia e cerca de 300g de ração por animal na volta ao capril).

Todas as amostras foram analisadas, seguindo-se as "Normas de Análises Físico-Químicas Oficiais do Lanara" envolvendo os seguintes parâmetros: densidade, acidez, % de gordura, % de extrato seco total, % de extrato seco desengordurado, índice crioscópico, % de cloretos, % de lactose, % de PTN (em caseína) e PTN (total).

Os experimentos visando a influência da mastite na qualidade do leite, foram realizadas utilizando-se 3 fêmeas de raça mestiça (Parda Alpina e Saanem), com 3 anos e produzindo em média 1,5 kg/dia, criadas em regime semi-extensivo. Inicialmente, as amostras de leite foram coletadas e em seguida testadas (cultura e CMT), comprovando-se a inexistência de mastite clínica ou sub-clínica. As amostras foram coletadas 24 horas após a inoculação de *Staphylococcus aureus* (coagulase positiva) com as seguintes dosagens: animal "A" 0,1 e 0,2 ml; "B" 0,3 e 0,4 ml e na fêmea "C" 1,5 e 1,6 ml, quando foram realizados CMT em cada teta e as citadas análises no leite.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das 960 análises efetuadas nas condições citadas estão contidas nos Quadros 1 e 2 para as amostras de leite de mistura e individual e no Quadro 3 para as amostras de leite sem e com mastite respectivamente.

As médias anuais referentes à densidade, apresentaram-se nos leites de fêmeas sem mastite, dentro do padrão regulamentar, (1.028 a 1.033, a 15°C) verificando-se seu discreto aumento no leite de mistura.

As médias anuais referentes à acidez, apresentaram-se também dentro do padrão (15 a 18°D) e sem diferenças significativas entre os leites individual e de mistura.

As médias anuais referentes à porcentagem de gordura apresentaram-se sempre acima do padrão (mínimo de 3,0%), possivelmente como consequência dos fatores raça e alimentação.

As médias anuais referentes aos percentuais de extrato seco total (EST) e desengordurado (ESD) apresentaram-

Quadro 1. Resultados das análises físico-químicas de leite de cabras sem sintomas de mastite e referentes a densidade, acidez, gordura, EST e ESD

Ano	Mês	Densidade			Acidez (°D)			Gordura (%)			EST (%)			ESD (%)		
		M ^a	IS ^b	IPA ^c	M	IS	IPA	M	IS	IPA	M	IS	IPA	M	IS	IPA
1989	jun.	31,2	32,8	31,9	15,32	23,60	15,60	4,3	5,1	3,7	13,30	14,65	12,75	8,94	9,50	8,88
	jul.	31,2	32,0	34,4	15,68	16,31	21,83	4,3	3,8	5,0	13,34	12,72	14,16	8,95	9,38	9,86
	ago.	32,1	34,0	32,2	14,45	15,46	14,69	4,7	2,3	3,9	13,74	11,58	13,00	9,21	9,18	9,10
	set.	31,1	31,3	30,4	15,85	13,66	13,40	4,4	3,2	4,0	13,37	11,99	12,72	8,92	8,74	8,67
	out.	31,0	31,5	32,0	15,73	15,63	16,31	4,3	4,4	3,8	13,25	12,46	12,72	8,25	8,25	9,38
	nov.	31,0	32,0	29,5	15,64	16,31	14,88	4,2	3,8	3,2	13,19	12,72	11,60	8,96	9,38	8,28
	dez.	30,8	29,7	31,0	15,60	14,75	13,47	3,8	2,4	2,7	12,64	10,64	11,28	8,77	8,19	8,58
1990	jan.	30,1	29,0	27,4	15,54	15,30	13,07	3,6	3,7	2,7	12,05	11,78	10,43	8,50	8,28	7,63
	fev.	30,5	29,9	29,9	15,24	14,93	14,93	3,8	3,3	3,3	12,51	11,69	11,69	8,67	8,6	8,59
	mar.	30,8	27,7	28,0	15,82	14,76	14,04	3,9	2,9	3,6	12,56	10,66	11,84	8,73	7,76	7,79
	abr.	30,7	29,0	29,4	17,47	14,70	14,46	4,0	2,8	3,7	12,83	10,92	11,67	8,76	8,07	8,47
	mai.	30,9	28,6	29,2	16,55	18,52	16,56	4,3	4,3	5,1	12,87	12,58	13,46	8,84	8,78	8,69
	jun.	30,9	29,9	32,2	17,08	16,66	20,49	3,9	4,7	4,0	12,72	13,43	14,21	8,82	8,68	10,71
\bar{X}		1033,5	1030,5	1030,5	15,84	15,43	15,67	4,1	3,5	4,0	12,95	12,14	12,42	8,73	8,64	8,83

^aM = Mistura do leite de 50 cabras Saanem e 10 Toggenburg (2/3 do rebanho) e Parda Alpina, 20 cabras (1/3).

^bIS = Individual Saanem.

^cIPA = Individual Parda Alpina.

Quadro 2. Resultados das análises físico-químicas do leite de cabras sem sintomas de mastite e referentes ao índice crioscópico, cloretos, lactose, PTN (em caseína) e PTN (total)

Ano	Mês	Índice crioscópico (°C)			Cloretos (em cl%)			Lactose (%)			PTN (em caseína)			PTN (total)		
		Ma	IS ^b	IPA ^c	M	IS	IPA	M	IS	IPA	M	IS	IPA	M	IS	IPA
1989	jun.	-0,586	-0,573	-0,573	0,18	0,21	0,18	3,49	3,32	3,43	2,50	3,0	3,00	3,20	4,14	4,00
	jul.	-0,588	-0,573	-0,576	0,17	0,19	0,16	3,47	3,38	3,52	2,55	2,83	3,92	3,22	3,59	4,72
	ago.	-0,583	-0,580	-0,570	0,16	0,16	0,17	3,26	3,47	3,48	2,82	2,75	2,48	3,27	3,39	3,06
	set.	-0,577	-0,558	-0,569	0,17	0,17	0,18	3,74	3,52	3,61	2,57	2,64	2,56	3,59	4,06	3,29
	out.	-0,586	-0,574	-0,573	0,19	0,19	0,19	3,50	3,28	3,38	2,54	2,61	2,83	3,07	3,51	5,59
	nov.	-0,581	-0,573	-0,575	0,18	0,19	0,21	3,50	3,38	3,00	2,53	2,83	2,24	2,53	3,59	3,17
	dez.	-0,592	-0,580	-0,570	0,19	0,19	0,20	3,29	3,40	3,23	2,42	2,05	2,33	3,08	2,64	2,89
1990	jan.	-0,567	-0,562	-0,563	0,22	0,21	0,26	3,25	3,27	3,03	2,35	2,27	2,06	3,14	2,94	2,73
	fev.	-0,580	-0,570	-0,570	0,20	0,24	0,22	3,42	3,25	3,25	2,41	2,45	2,45	3,17	3,17	3,17
	mar.	-0,580	-0,560	-0,565	0,23	0,27	0,25	3,38	2,89	3,21	2,42	2,25	2,09	3,27	2,93	2,97
	abr.	-0,602	-0,585	-0,575	0,21	0,22	0,24	3,45	3,33	3,39	2,62	2,18	2,10	3,38	2,89	2,69
	mai.	-0,586	-0,575	-0,586	0,21	0,24	0,21	3,23	3,22	3,18	2,57	2,60	2,72	3,35	3,12	3,49
	jun.	-0,606	-0,610	-0,540	0,21	0,20	0,20	3,52	3,09	2,96	2,50	2,55	4,09	3,18	3,35	4,95
\bar{X}		-0,585	-0,620	-0,569	0,19	0,20	0,21	3,42	3,29	3,27	2,52	2,53	2,68	3,43	3,33	3,59

^aM = Mistura do leite de 50 cabras Saanem e 10 Toggenburg (2/3 do rebanho) e Parda Alpina, 20 cabras (1/3).

^bIS = Individual Saanem.

^cIPA = Individual Parda Alpina.

se dentro dos padrões regulamentares (mínimas de 11,8% a 8,5% respectivamente).

As médias anuais referentes à porcentagem de cloretos observadas (0,19% leite de mistura, 0,20% leite individual Saanem e 0,21% leite individual Parda Alpina) encontram-se acima do normal e dentro de padrões considerados para vacas com mastite.

As médias anuais de todos os leites referentes à porcentagem de lactose apresentaram-se abaixo do padrão exigido pelo RIISPOA (mínimo de 4,3%).

As médias referentes aos índices crioscópicos estiveram sempre acima do padrão (-0,55°C).

As médias anuais referentes a PTN em caseína e PTN total apresentaram-se sempre abaixo dos padrões mínimos revelados pela literatura.

Os resultados obtidos nas análises do leite de cabras antes e após a inoculação de *Staphylococcus aureus*, apresentaram significativas alterações na densidade (diminuição) e acidez (bastante diminuída), seguramente como consequência da atuação do *S. aureus* sobre a lactose desdobrando-a até ácido láctico. Os percentuais de gordura não sofreram alterações significativas, os percentuais de EST e ESD apresentaram-se diminuídos, acompanhando as alterações citadas para densidade. As

alterações apresentadas nas análises referentes a cloretos foram significativas (percentuais aumentados) devido ao aumento da permeabilidade, como consequência da inflamação provocada por *Staphylococcus aureus*, fato bastante ressaltado pela literatura especializada. A lactose, apresentou-se bastante diminuída, como consequência da ação microbiana (fonte de hidrato de carbono). Finalmente os percentuais de PTN (em caseína e total) apresentaram-se discretamente diminuídas, também como consequência do metabolismo microbiano.

A produção de leite das cabras com mastite ficou bastante reduzida, a fêmea "A" que recebeu o menor "inoculum" (0,1 ml) produziu apenas 300 ml e as demais ("B" e "C") 80 e 50 ml, respectivamente.

Como o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA 1980) adota para o controle de qualidade do leite de cabra e ovelha os mesmos requisitos no julgamento da normalidade do leite de vaca, os resultados desta pesquisa, mostrando acentuadas variações das características físico-químicas do leite da espécie caprina, permitem aperfeiçoar a legislação em vigor, tornando-a mais adequada e específica para o controle do leite de cabra destinado a comercialização e a industrialização.

Quadro 3. Resultados das análises de leite individual de cabras sem mastite e com mastite

	Leite individual Fêmeas sem mastite			Leite de mistura Fêmeas sem mastite A, B, C	Leite individual Fêmea com mastite A
	A	B	C		
Densidade (a 15°C)	1.035,0	1.033,0	1.032,0	1.022,5	1.033,0
Acidez (°D)	13,98	14,50	16,06	6,1	14,50
Gordura (%)	9,0	6,5	6,5	4,5	7,0
EST (%)	19,91	16,31	16,06	11,28	14,53
ESD (%)	10,91	9,81	9,56	6,78	7,53
I, crioscópico (°C)	-0,630	-0,650	-0,64	-0,630	-0,570
Cloretos	0,24	0,21	0,21	0,39	0,34
Lactose (%)	2,80	2,60	2,83	1,12	1,00
PTN (em caseína)	4,05	4,60	3,38	2,76	3,29
PNN (total)	5,61	5,00	4,54	-	4,89

CONCLUSÕES

As análises realizadas nas condições citadas, demonstram consideráveis modificações nas características físico-químicas e no volume de produção do leite de cabra com mastite.

Os parâmetros que sofreram alterações (densidade, acidez, cloretos, lactose e PTN em caseína e total) indicam que, segundo o que determina o RIISPOA, deveriam ser realizadas provas complementares referentes a cloretos, lactose e PTN, quando, nas provas de rotina, a densidade e a acidez se apresentassem fora dos padrões regulamentares no leite de mistura.

Agradecimentos.- Sinceros agradecimentos à colaboração que nos foi prestada pelos Drs. Rômulo Cezar Spinelli R. Miranda e Paulo R.C. Cordeiro, e ao Diretor do Instituto de Zootecnia, UFRRJ, bem como ao Zootecnista José Paulo de Oliveira sem os seus esforços não teria sido possível a realização do presente trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaral L.A., Nader Filho A. & Lew B.J. 1988. Estudo da variação do teor de cloretos no colostro e no leite de vacas abatidas. *Ars Veterinaria* 4(1):105-112.
- Castro A.A. 1979. A cabra. Secretaria de Agricultura e Abastecimento de Fortaleza. 376 p.
- Castro M.V., Langenegger, R.C. & Langenegger J. 1989. Prevalência e etiologia da mastite caprina no Estado do Rio de Janeiro. XV Congr. Microbiologia, Ribeirão Preto, São Paulo.
- El-Naggar M.A. 1973. Una reacion sencilla para el diagnostico de mastite bovina. *Notfcias Med. Vet.* 3:219-225.
- Furtado M.M. 1987. Pediatras indicam leite de cabra para crianças desnutridas. *Cabras e Bodes* 11 (6). (Citado pelo Noticiário da EMBRAPA nº 18)
- Guimarães M.P.S.L.M.P. 1990. Características físico-químicas e microbiológicas do leite caprino: uso do CMT. *Revta Agropec.* 4 (24):17.
- Hipolito O., Freitas M.G. & Figueiredo J.B. 1965. *Doenças Infecto-Contagiosas dos Animais Domésticos*. Ed. Melhoramentos, São Paulo. 596 p.
- Houts S.S. 1988. Lactose intolerance. *Food Technol.* (March): 110-112.
- Jenness R. 1980. Composition and characteristics of goat milk: Review. *J. Dairy Sci.* 63 (10):160-30.
- Larson B. 1978. The dairy goat as model in lactation studies. *J. Dairy Sci.* 61 (70):1023-1029.
- Normas de Análises Físico-Químicas Oficiais do Lanara. 1981. *Lab. Nac. Ref. Anim. Min. Agricultura*, Pedro Leopoldo, Minas Gerais.
- Oshima M., Fuse M. & Ishi T. 1974. An interrelationship between increase of sodium and chloride contents and the changes in other constituents in abnormal milk. *Jap. J. Zoot. Sci.* 45 (10):543-550.
- Parkash S. & Jenness R. 1967. The composition and characteristics of goat's milk: a review. *J. Dairy Sci.* (Abstract) 30(2):67.
- Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). 1980. *Min. Agricultura*, Brasília.
- Spreer R. 1975. *Lactologia Industrial*. Editora Acribia, Zaragoza, España. 320 p.
- Stheling J.M. & Souza M.H. 1987. Leite de cabras: aspectos nutricionais e de mercado. *Inf. Agropec.* Belo Horizonte, 13 (146):54-55.
- Wilkinson J.M. & Stark B.A. 1987. *Producción Comercial de Cabras*. Editora Acribia, Zaragoza, España. 165 p.
- Wolfshoon-Pombo A.F. 1978. Composição físico-química do leite de vaca e de cabra na micro região do Vale do Paraíba. *Boletim do Leite* 50 (597):28-30.

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* (Compositae) EM COELHOS¹

CARLOS HUBINGER TOKARNIA², PAULO VARGAS PEIXOTO³, ALDO GAVA⁴ e
JÜRGEN DÖBEREINER⁵

ABSTRACT.- Tokarnia C.H., Peixoto P.V., Gava A. & Döbereiner J. 1992. [Experimental poisoning by *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* and var. *weirii* (Compositae) of rabbits.] Intoxicação experimental por *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* (Compositae) em coelhos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 12(3/4):49-64. Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970, Brazil.

The dried and powdered aerial parts of *Baccharis megapotamica* Sprengel var. *megapotamica* and var. *weirii* (Baker) Barroso, plants which occur mainly in Southern Brazil, were toxic when administered by stomach tube to 68 rabbits; 42 of these died. The two varieties of the plant showed similar toxic properties, but there were a few differences. In both varieties the toxic symptoms were practically the same independently of its growing stage, the sex of the plants or its origin. However there were large differences in the lethal dose of the two varieties. It was between 2 and 4 g/kg for variety *megapotamica* and between 0,34 and 0,68 g/kg for var. *weirii* (dried plant material). Thus var. *weirii* was about 5 times more toxic than var. *megapotamica*. Fatal poisoning was acute with both varieties. In most cases symptoms caused by var. *megapotamica* were seen during 20 hours to 4 days; with var. *weirii* they were seen in most cases during less than 15 hours. Death occurred in most cases between 22 and 73 hours, and between 12 and 56 hours respectively after administration of the plant. The main symptoms shown by the rabbits intoxicated by var. *megapotamica* were anorexia and modified feces, mainly in the form of diarrhea, in most cases with the presence of mucus and blood. Anorexia was observed also in poisoning by var. *weirii*, but there were few cases of diarrhea and the faeces never contained mucus and blood. The main post-mortem findings in the rabbits poisoned by the two varieties were seen in the digestive tract, mainly in the stomach and caecum. The mucosa of the stomach was reddened, especially in the cranial part. The content of the caecum had a liquid-pasty consistency. Dark red slightly elevated and rough areas were seen on the caecal mucosa. The caecal wall was frequently edematous. There were also lesions in the small and large intestine. In the small intestine lesions were seen only in poisoning by var. *weirii* and consisted of a reddened mucosa; in the colon and rectum severe lesions were seen only in poisoning by var. *megapotamica* and consisted of diptheroid necrosis. Both varieties produced livers that were almost always clearer than normal and slightly mottled. The histological lesions were necrosis and hemorrhages in the upper portion of the stomach mucosa, but necrosis of the parietal cells were more severe with var. *megapotamica*, being only slight with var. *weirii*. The mucosa of the small intestine only showed congestion and hemorrhages with var. *weirii*. The most important lesions were seen in the caecum, where there were hemorrhages and necrosis of the mucosa, and edema of the submucosa. Granulocytes were present, in most cases in small amounts, but were generally more numerous with var. *megapotamica*, were some showed karyorrhexis; karyorrhexis was not seen after poisoning by var. *weirii*. In the initial part of the colon there were more hemorrhages and necrosis of the mucosa with var. *weirii*. However in the mucosa of the distal part of the colon and of the rectum, hemorrhages and necrosis with the presence of nuclear detritus (debris) on the surface of the mucosa, and necrosis with cariorexia of the epithelial cells of the glands, were more common with var. *megapotamica*. Basically the same lesions were seen in the liver following poisoning by both varieties; there was severe tumefaction of the hepatic cells of the whole lobule, being especially severe in the periportal area. In the lymphatic tissue of the spleen and vermiform appendice of the caecum, necrosis characterized by cariorexia of the lymphoid cells in the follicles, was produced by both varieties, but was more frequent and more pronounced with var. *weirii*. The two varieties, dried and milled, lost some of their toxicity, when kept in closed

¹ Aceito para publicação em 12 de novembro de 1991.

² Departamento de Nutrição Animal e Pastagens, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970; bolsista do CNPq (305010/76-VT-07).

³ Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, 97119-900 Santa Maria, RS.

⁴ Universidade para o Desenvolvimento de Santa Catarina, Centro Agroveterinário, Av. Luiz de Camões 2090, Lages, SC 88520-000.

⁵ Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970; bolsista do CNPq (305294/88-1).

bottles; but when stored unmilled in cotton sacs, the plants kept their toxicity entirely. Rabbits, to which the two varieties were given, various times in sublethal doses with monthly intervals, did not acquire tolerance against the toxic properties of the plant.

INDEX TERMS: Poisonous plants, *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica*, *Baccharis megapotamica* var. *weirii*, Compositae, experimental poisoning, rabbit, pathology.

SINOPSE.- As partes aéreas dessecadas e pulverizadas de *Baccharis megapotamica* Sprengel variedades *megapotamica* e *weirii*, plantas brasileiras conhecidas por conterem tricotecnos, foram administradas por via intragástrica a 68 coelhos, dos quais 42 morreram. O quadro clínico-patológico observado na intoxicação por ambas as variedades foi semelhante, porém a dose letal da var. *megapotamica* oscilou entre 2 e 4 g/kg, enquanto que a da var. *weirii* situou-se entre 0,34 e 0,68 g/kg, independentemente da fase de crescimento, do sexo da planta ou da procedência. Da mesma forma, a evolução nos casos fatais da intoxicação pela var. *megapotamica* foi mais longa (na maioria dos casos entre 7 e 32 horas) que a da var. *weirii* (geralmente menos de 15 horas). Na intoxicação pela var. *megapotamica* os principais sintomas foram anorexia e fezes alteradas, sobretudo diarreia, geralmente com presença de muco e sangue, já na intoxicação pela var. *weirii* havia também anorexia, porém a diarreia foi pouco freqüente e sem presença de muco ou sangue. Os achados de necropsia na intoxicação por ambas as variedades consistiram em avermelhamento da mucosa do estômago; ceco com áreas elevadas e rugosas, de coloração vermelho-escura, edema de parede e conteúdo líquido-pastoso; fígado mais claro e levemente mosqueado. Na intoxicação pela var. *megapotamica* havia ainda necrose difteróide no cólon e reto, enquanto que com a var. *weirii* observou-se avermelhamento da mucosa do intestino delgado. Histologicamente, havia, na intoxicação por ambas as variedades, necrose e hemorragias na parte superior da mucosa do estômago, porém necrose das células parietais foi bem mais acentuada na intoxicação pela var. *megapotamica*; no ceco, observaram-se hemorragias e necrose na mucosa, edema na submucosa e presença de polimorfonucleares que, na intoxicação pela var. *megapotamica*, em parte estavam em cariorrexia; no cólon, havia necrose e hemorragias, que na intoxicação pela var. *weirii* eram mais acentuadas na parte proximal, na intoxicação pela var. *megapotamica* eram mais acentuadas na parte distal e também presentes no reto; fígado com acentuada tumefação celular; no tecido linfóide (baço, apêndice vermiforme do ceco), necrose com cariorrexia, mais freqüente e mais intensa na intoxicação pela var. *weirii*. Por 9 a 12 meses a planta dessecada inteira e em sacos de pano conservou integralmente a sua toxidez, porém quando guardada moída e em vidros de tampa plástica, perdeu um pouco de sua toxidez. Coelhos que receberam repetidamente doses subletais da planta, com intervalos mensais, não adquiriram tolerância à ação tóxica da planta.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica*, *Baccharis megapotamica* var. *weirii*, Compositae, intoxicação experimental, coelho, patologia.

INTRODUÇÃO

Através da experimentação foi demonstrada a toxidez de *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* para bovinos. Em ambas as variedades a ação da planta foi praticamente a mesma. A evolução da intoxicação foi aguda. No quadro clínico predominaram sintomas relativos ao aparelho digestivo. À necropsia chamava atenção congestão da mucosa e edema da parede do rú-

men; nos exames histopatológicos havia necrose do epitélio do rúmen, de hepatócitos e de elementos linfóides do tecido linfático. Houve porém uma grande diferença na dose letal entre as 2 variedades. Enquanto que para a var. *megapotamica* a dose letal variou entre 3 e 4 g/kg, para a var. *weirii* foi de 1 g/kg. Portanto, a var. *weirii* foi 3 a 4 vezes mais tóxica que a var. *megapotamica*. (Tokarnia et al. 1992)

Até o momento, existem apenas históricos e observações sobre a ocorrência da intoxicação espontânea por *B. megapotamica* var. *weirii*; já em relação a var. *megapotamica*, as informações obtidas até agora foram sempre no sentido de que os bovinos não comem esta planta (Tokarnia et al. 1992).

O presente estudo experimental em coelhos foi realizado com a finalidade de verificar se o coelho serve como animal de pequeno porte sensível à intoxicação por *B. megapotamica* para a continuação de estudos, tais como comparações de sua toxidez em diferentes fases de crescimento, de acordo com o sexo e a procedências da planta, preservação de sua toxidez quando armazenada, capacidade de induzir tolerância nos animais após repetidas ingestões da planta, e trabalhos com seu(s) princípio(s) tóxico(s).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas coletas de *Baccharis megapotamica* Sprengel var. *megapotamica* e var. *weirii* (Baker) Barroso em diversos locais (de *B. megapotamica* var. *megapotamica* em Santa Maria e Guaíba, RS, e de *B. megapotamica* var. *weirii* em Chapecó e Lages, SC), em diversas épocas do ano, com a planta em diferentes fases de crescimento (em brotação, planta madura sem inflorescências e planta madura com inflorescências). Quando com inflorescências, as plantas masculinas e femininas eram separadas.

As plantas foram dessecadas à sombra em temperatura ambiente. Em seguida eram dessecadas em estufa a 40-45°C durante alguns minutos, trituradas em moinho Wiley com malha 60 e finalmente conservadas em vidros fechados com tampa plástica, guardados à sombra, em temperatura ambiente. A relação do peso de material dessecado para fresco foi de 1:3,6 na época de floração e de 1:4,25 na época de brotação (determinações feitas com *B. megapotamica* var. *megapotamica* em Santa Maria).

As partes aéreas dessecadas e pulverizadas das 2 variedades de *B. megapotamica* foram administradas aos coelhos, com peso de aproximadamente 3 kg em doses únicas, previamente determinadas. Para se poder fazer comparações com *B. coridifolia*, outra planta tóxica desse gênero, testada em coelhos (Döbereiner et al. 1976), foram usadas também nesse trabalho as doses de 0,68 g/kg ou frações e múltiplos desse valor. A planta pulverizada foi administrada na forma de suspensão aquosa administrada por meio de sonda gástrica, adaptada a um funil de separação (Peixoto et al. 1987). Após a administração da planta, os coelhos, mantidos em gaiolas individuais, ficavam em observação quase

contínua durante a maior parte do dia. Os animais recebiam água *ad libitum* e ração peletizada comercial em quantidades medidas para controlar modificações no apetite. Nos casos de morte, fazia-se a necropsia e coletavam-se fragmentos de fígado, rins, coração, pulmões, baço, sistema nervoso central e sobretudo das diversas partes do tubo digestivo, para exames histopatológicos. Os fragmentos eram fixados em formol a 10%, incluídos em parafina, cortados em micrótomo na espessura de 5 μ e corados pela Hematoxilina-Eosina (HE).

Os experimentos para verificar se *B. megapotamica* (var. *megapotamica* e var. *weirii*) mantêm sua toxidez quando armazenada, foram realizados 9 a 12 meses após a sua coleta, com as mesmas amostras usadas nos experimentos iniciais, isto é, as plantas moídas e guardadas em vidros fechados com tampa plástica, mantidas na sombra à temperatura ambiente e simultaneamente com amostras das mesmas plantas que, após dessecação, foram guardadas em sacos de pano e somente moídas pouco antes do novo experimento.

Quadro 1a. *Intoxicação experimental por Baccharis megapotamica var. megapotamica em coelhos. Doses e sintomas*

Coelho nº (reg. SAP)	Peso (g)	Planta				Desfecho	Início dos sintomas após adm. planta	Evolução (Recuperação)	Morte após administração da planta	Sintomas					
		Coleta		Adm.inistração						anorexia	diarréia	sangue	muco		
		Local	Data	Ciclo e sexo	Data									Quant. g	Dose g/kg
Experimentos com a planta procedente de Santa Maria, RS															
1062 (24801-805)	3320	S. Maria LC 289	jan. 1990	M ^a	1.3.90	13,3	4,0	Morreu	22h28min	aprox. 24h	aprox. 64 1/2h	+++ ^b	+++	+++	+
1056	4420	"	"	"	5.3.90	8,9	2,0	Adoeceu +	aprox. 36h	(48h)	-	+	(+)	-	-
1064	3410	"	"	"	9.3.90	9,3	2,72	Adoeceu +++	22h	(16 dias)	-	+++	++	+	+++
1072	3120	S. Maria LC 296	29.3.90	m	26.4.90	8,5	2,72	Adoeceu ++(+)	27h55min	(10 dias)	-	+++	+	++	++
1076 (24850-855)	3110	"	"	"	3.5.90	12,5	4,0	Morreu	24h25min	3 min	24h28min	-	-	-	-
1071	3220	S. Maria LC 295	"	f	26.4.90	8,8	2,72	Adoeceu ++(+)	23h15min	(8 dias)	-	+++	+	-	++ e psm ^c
1075 (24863-869)	3270	"	"	"	3.5.90	13,1	4,0	Morreu	23h20min	18 dias	19 dias	+++	++	+	+++
1074 (24856-861)	3560	"	"	"	9.5.90	19,4	5,44	Morreu	23h55min	32h10min	56h05min	+++	++	++	++
1109 (25149-155)	3440	S. Maria LC 309	10.4.90	f	12.4.91	13,8	4,0	Morreu	23h30min	8h29min	31h59min	+++	-	-	-
1123	3580	"	"	"	9.8.91	9,8	2,72	Adoeceu ++(+)	23h00min	(7 dias)	-	+++	+	-	-
1080	3130	S. Maria LC 297	13.7.90	B	8.8.90	4,3	1,36	Adoeceu +	23h45min	(5 dias)	-	++	(+)	-	+
1082 (24921-927)	3220	"	"	"	"	8,8	2,72	Morreu	23h50min	26h47min	50h37min	-	(+)	+	-
1083 (24942-948)	3170	"	"	"	9.8.90	6,34	2,0	Morreu	23h35min	quase 4 dias	5 dias	+++	+	+	+
1084 (24935-941)	3410	"	"	"	"	10,3	3,0	Morreu	23h40min	11h43min	35h23min	+++	+	-	-
1085 (24928-934)	3630	"	"	"	"	14,6	4,0	Morreu	24h15min	9h24min	33h39min	-	-	-	-
1100	3260	S. Maria LC 300	25.10.90	B	10.12.90	4,5	1,36	Adoeceu +++	33h25min	(7 dias)	-	+++	++	++	++ e psm
1104	2840	"	"	"	13.12.90	2,0	0,68	S.s	-	-	-	-	-	-	-
1088 (25075-082)	3430	"	"	"	17.12.90	6,9	2,0	Morreu	21h20min	14h31min	35h51min	+++	+	+	+
1133 (25409-416)	3260	S. Maria LC 311	24.6.91	B	12.8.91	6,5	2,0	Morreu	21h55min	7h07min	22h02min	+++	-	-	-
1139	3180	"	"	"	15.8.91	4,3	1,36	Adoeceu +	23h55min	(3 dias)	-	+	-	-	-
1134 (25441-448)	3040	S. Maria LC 312	24.6.91	f	12.8.91	6,0	2,0	Morreu	22h30min	aprox. 2 dias e 22h	quase 4 dias	+++	+	+	+
1135	3110	"	"	"	23.8.91	4,2	1,36	Adoeceu +++	24h20min	(26 dias)	-	+++	+	-	+
Experimentos com a planta procedente de Guafba, RS															
1063	3200	Guafba LC 290	jun. 1989	m	1.3.90	4,4	1,36	Adoeceu +	36h	(24h)	-	+	(+)	-	-
1065 (24806-808)	3100	"	"	"	5.3.90	8,5	2,72	Morreu	23h18min	34h45min	58h	+++	++	-	-
1054	3440	"	"	"	9.3.90	6,9	2,0	Adoeceu +	33h20min	(36h)	-	+	-	-	-
1067	3300	Guafba LC 291	"	f	1.3.90	4,5	1,36	Adoeceu ++(+)	22h10min	(4 1/2 dias)	-	+++	++	+	+++
1068 (24809-812)	3100	"	"	"	5.3.90	8,5	2,72	Morreu	23h33min	37h25min	61h	+++	+	+	+++ e psm
1061	3700	"	"	"	9.3.90	7,4	2,0	Adoeceu ++	48h20min	(60h)	-	+++	-	++	++
1111	2860	Guafba LC 304	9.12.90	B	11.1.91	3,9	1,36	Adoeceu +	25h	(2 dias)	-	++	-	-	-
1116 (25163-169)	3820	"	"	"	12.4.91	7,6	2,0	Morreu	17h30min	56h	73h30min	+++	+	-	-

^a M = planta madura; B = planta em brotação; f = planta feminina em floração; m = planta masculina em floração.

^b +++ Sintomas acentuados; ++ moderados (regulares); + leves; (+) discretos.

^c psm = pseudomembranas.

RESULTADOS

Os principais dados sobre os experimentos com *B. megapota mica* var. *megapota mica* e var. *weirii* constam nos Quadros 1 a 3.

I. Doses tóxicas

B. megapota mica var. *megapota mica*

a) de acordo com as diferentes fases de crescimento.

Verifica-se que a planta na fase de brotação foi um pouco mais tóxica que quando madura ou com inflorescências. A dose letal da planta procedente de Santa Maria foi 2 g/kg para a brotação e 2 a 4 g/kg para a planta madura ou com inflorescências. Para a planta procedente de Guafba, a dose letal da brotação também foi 2 g/kg e da planta com inflorescências 2,72 g/kg.

b) de acordo com o sexo da planta.

Não houve diferenças significativas na toxidez das plantas com inflorescências masculinas e femininas, tanto na planta procedente de Santa Maria, como na de Guafba. Na planta procedente de Santa Maria, a dose letal, para ambos os sexos, foi de 2 a 4 g/kg, na procedente de Guafba, 2,72 g/kg.

c) de acordo com a procedência da planta.

A brotação da planta procedente de Santa Maria e a de Guafba tiveram a mesma toxidez (2 g/kg); a planta com inflorescências procedente de Guafba mostrou aproximadamente a mesma toxidez do que a de Santa Maria (2,72 e 2 a 4 g/kg, respectivamente).

B. megapota mica var. *weirii*

a) de acordo com as diferentes fases de crescimento.

Quadro 1b. Intoxicação experimental por *Baccharis megapota mica* var. *weirii* em coelhos. Doses e sintomas

Coelho nº (reg. SAP)	Peso (g)	Planta				Desfecho	Início dos sintomas após adm. planta	Evolução (Recuperação)	Morte após administração da planta	Sintomas					
		Coleta		Administração						Anorexia	Fezes	Muco			
		Local	Data	Ciclo e sexo	Data	Quant. g	Dose g/kg								
<i>Experimentos com a planta procedente de Chapecó, SC</i>															
1073 (24836-841)	3160	Chapecó LC 294	18.2.89	B ^a	26.4.90	7,4	2,0	Morreu	9h25min	55min	10h20min	- ^b	-	-	-
1097 (25034-041)	2790	Chapecó LC 301a	17.10.90	f	10.12.90	1,9	0,68	Morreu	23h30min	2h05min	25h35min	-	-	-	-
1101 (25059-066)	3140	"	"	"	11.12.90	1,1	0,34	Morreu	21h35min	12h10min	33h45min	+	-	-	-
1105	3150	"	"	"	17.12.90	0,54	0,17	S.s.	-	-	-	-	-	-	-
1120 (25137-143)	3520	Chapecó LC 301b	"	m	5.3.91	1,2	0,34	Morreu	33h22min	22h54min	56h16min	+	+	-	-
1119	3580	"	"	"	8.3.91	0,61	0,17	Adoeceu +	33h35min	(4 dias)	-	+++	-	-	-
1112 (25120-121)	3040	Chapecó LC 306	20.12.90	B	1.2.91	1,03	0,34	Morreu	23h25min	aprox. 15h	38h25min	+	-	-	-
1115	3840	"	"	"	3.2.91	0,66	0,17	S.s.	-	-	-	-	-	-	-
<i>Experimentos com a planta procedente de Passo do Souza, Lages, SC</i>															
1098 (25042-049)	2680	Passo S LC 302	19.9.90	m	10.12.90	1,85	0,68	Morreu	21h45min	18 min	22h03min	-	-	-	-
1102 (25067-074)	2770	"	"	"	12.12.90	0,95	0,34	Morreu	21h45min	14h23min	36h08min	+++	+++	-	-
1106	3250	"	"	"	17.12.90	0,55	0,17	S.s.	-	-	-	-	-	-	-
1099 (25050-057)	3000	Passo S LC 303	"	f	10.12.90	2,1	0,68	Morreu	21h35min	aprox. 11h	32h35min	+	-	-	-
1103	3300	"	"	"	12.12.90	1,2	0,34	Adoeceu +	aprox. 24h	(3 dias)	-	+	-	-	-
1107	3260	"	"	"	17.12.90	1,1	0,34	Adoeceu +	aprox. 24h	(2 dias)	-	-	-	-	-
1121 (25392-399)	3360	Passo S LC 305	25.11.90	B	9.8.91	1,2	0,34	Morreu	33h10min	11h30min	44h40min	+	-	-	-
1114	3250	"	"	"	2.2.91	0,56	0,17	Adoeceu ++	21h30min	(7 dias)	-	++	++	-	-
1128 (25384-391)	3460	Passo S LC 313	10.7.91	M	9.8.91	1,2	0,34	Morreu	?	?	aprox. 21h	-	-	-	-
1137 (25449-456)	3360	"	"	"	15.8.91	0,57	0,17	Morreu	24h05min	2h55min	27h00min	+++	-	-	-
1136	3500	"	"	"	23.8.91	0,3	0,085	Adoeceu +	24h10min	(3 dias)	-	+	-	-	-
<i>Experimentos com a planta procedente de Cochilha Rica, Lages, SC</i>															
1079 (24981-987)	3300	Cochilha LC 298	31.7.90	M	13.9.90	9,0	2,72	Morreu	?	?	aprox. 22h	-	-	-	-
1087 (24988-994)	3420	"	"	"	14.9.90	4,7	1,36	Morreu	5h30min	7h	12h30min	-	-	-	-
1070 (24995-002)	3330	"	"	"	17.9.90	2,3	0,68	Morreu	29h40min	35min	30h15min	-	-	-	-
1086	3180	"	"	"	20.9.90	0,54	0,17	S.s.	-	-	-	-	-	-	-
1095	2900	"	"	"	24.9.90	1,0	0,34	Adoeceu +(+)	10h	(48h)	-	+++	-	-	-

^a M = planta madura; B = planta em brotação; f = planta feminina em floração; m = planta masculina em floração.

^b +++ Sintomas acentuados; ++ moderados (regulares); + leves; (+) discretos.

Quadro 2a. *Intoxicação experimental por Baccharis megapotamica var. megapotamica em coelhos. Achados de necropsia*

Coelho nº (reg. SAP)	Planta	Dose g/kg	Estômago	Intestino delgado	Ceco					Cólon		Reto	Fígado mais claro (levemente mosqueado)	Baço (espleno- megalia)
					Conteúdo	Edema da parede e/ou dobras	Áreas rugosas		Cristas verme- lhas	Porção próxima	Porção distal			
							Entre as dobras	Nas dobras						
<i>Experimentos realizados com a planta procedente de Santa Maria, RS</i>														
1062 (24801-805) (24843-846)	289 M	4,0	v ^a	1	1	- ^b	-	-	-	10	vr	vr	+	-
1076 (24850-855)	296 m	4,0	-	-	1	-	++	+	+	p	p	p	+	+
1075 (24863-869)	295 f	4,0	-	-	-	-	-	-	-	-	peritonite fibronosa em organização por perfuração		-	-
1074 (24856-861)	295 f	5,44	v	-	1	+	+	-	+++	-	-	vla	+	-
1109 (25149-155)	309 f	4,0	v	-	1	-	+	-	+++	-	-	-	+	-
1082 (24921-927)	297 B	2,72	vf	-	1	++	+	-	++	-	-	larv	+	-
1083 (24942-948)	297 B	2,0	-	-	1	-	+++	++	-	-	r	-	+	-
1084 (24935-941)	297 B	3,0	v	mv	1a	+	++(+)	++	+	-	-	-	+	-
1085 (24928-934)	297 B	4,0	vf	-	1	-	+	-	+	-	vr	vr	+	-
1088 (25075-082)	300 B	2,0	vf	-	-	-	++(+)	++	+	-	-	vr	+	-
1133 (25409-416)	311 B	2,0	v	-	-	+	+	-	-	-	vr	r	+	-
1134 (25441-448)	312 f	2,0	-	-	1	+	+++	+++	-	-	r	r	+	-
<i>Experimentos realizados com a planta procedente de Gualba, RS</i>														
1065 (24806-808)	290 m	2,72	-	dm	1a	+++	+++	+++	-	vr	-	v	+	-
1068 (24809-812)	291 f	2,72	v	-	1	+	++	++	++	-	vr	p	+	-
1116 (25163-169)	304 B	2,0	v	-	1	-	-	-	++	-	-	-	+	-

^a 1 = conteúdo líquido-pastoso; p = conteúdo pastoso; a = conteúdo avermelhado; m = conteúdo mucoso; d = dilatado; f = depósito de fibrina; v = mucosa vermelha; r = mucosa rugosa; aa = mucosa amarelo-acinzentada.

^b ++ + Lesão acentuada; ++ moderada; + leve; (+) discreta; - ausência de lesão.

Também nesta variedade verificou-se pouca variação da toxidez da planta, sendo a dose letal bastante constante (0,34 g/kg).

A planta procedente de Chapecó sempre teve a mesma toxidez (0,34 g/kg); a planta com inflorescências femininas procedente de Passo de Souza, foi menos tóxica (0,68 g/kg) do que a brotação (0,34 g/kg) e do que a planta com inflorescências masculinas (0,34 g/kg), porém a planta madura sem inflorescências foi mais tóxica (0,17 g/kg).

b) de acordo com o sexo da planta.

Também quanto a esse aspecto não houve muita diferença na toxidez entre as plantas com inflorescências masculinas e femininas. Com a planta procedente de Chapecó a toxidez sempre foi a mesma (0,34 g/kg); a planta com inflorescências femininas procedente de Passo de Souza foi um pouco menos tóxica do que a com inflorescências masculinas (0,68 e 0,34 g/kg respectivamente).

c) de acordo com a procedência.

A brotação da planta procedente de Chapecó e de Passo do Souza mostraram praticamente a mesma toxidez; exceção foi a planta com inflorescências femininas procedente de Passo do Souza, que foi um pouco menos tóxica do que a de Chapecó (0,68 g/kg e 0,34 g/kg, respectivamente). As plantas com inflorescências masculinas tinham a mesma toxidez, independentemente da origem (0,34 g/kg). Por outro lado a planta madura sem inflorescências procedente de Passo do Souza, foi mais tóxica (0,17 g/kg), e a planta madura sem inflorescências procedente de Cochilha Rica, foi menos tóxica (0,68 g/kg).

II. Prazo entre a administração da planta e o início dos sintomas, evolução, e prazo entre a administração da planta e a morte do animal

B. megapotamica var. *megapotamica*

Com a planta procedente de Santa Maria, o prazo entre

Quadro 2b. *Intoxicação experimental por Baccharis megapotamica var. weirii em coelhos. Achados de necropsia*

Coelho nº (reg. SAP)	Planta	Dose g/kg	Estômago	Intestino delgado	Ceco					Cólon		Reto	Fígado mais claro (levemente mosqueado)	Baço (esplenomegalia)
					Conteúdo	Edema da parede	Áreas rugosas		Cristas vermelhas	Porção proximal	Porção distal			
							Entre as dobras	Nas dobras						
<i>Experimentos realizados com a planta procedente de Chapecó, SC</i>														
1073 (24836-841)	294	B 2,0	a	db	1	-	-	-	-	-	-	-	+	-
1097 (24034-041)	301a	f 0,68	v	vm	1	+	++	++	+++	-	-	a	+	+
1101 (25059-066)	301a	f 0,34	v	-	1	++	++	++	+++	-	H+	-	+	-
1120 (25137-143)	301b	m 0,34	-	-	1a	+++	+++	+++	+	H+	p	p	(+)	++
1112 (25120-121)	306	B 0,34	-	-	1	-	++	++	-	p	p	-	-	-
<i>Experimentos realizados com a planta procedente de Passo do Souza, Lages, SC</i>														
1098 (25042-049)	302	m 0,68	vf	va	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-
1102 (25067-074)	302	m 0,34	v	vm	sc	++	+++	+++	-	1a	1a	1a	-	-
1099 (25050-057)	303	f 0,68	vf	v	1	+	-	++	+	1	1	1	+	-
1121 (25392-399)	305	B 0,34	v	dv	1a	+(+)	+++	+++	-	a	da	-	+	-
1128 (25384-391)	313	M 0,34	v	dvm	1	-	-	-	(+)	-	-	1	+++	-
1137 (25449-456)	" "	0,17	v	v	1	++	++	++	+++	-	-	-	++	+
<i>Experimentos realizados com a planta procedente da Cochilha Rica, Lages, SC</i>														
1079 (24981-987)	298	M 2,72	-	da	1	-	-	-	-	p	p	-	+	+++
1087 (24988-994)	298	M 1,36	v	dam	1	(+)	-	-	-	p	p	p	+	+++
1070 (24995-25002)	298	M 0,68	v	dvam	1	-	+	-	+++	p	p	-	+	+

a+ + + Lesão acentuada; ++ moderada; + leve; (+) discreta; - ausência de lesão.

b1 = conteúdo líquido-pastoso; p = conteúdo pastoso; a = conteúdo avermelhado; m = conteúdo mucoso; d = dilatado; f = depósito de fibrina; v = mucosa vermelha; r = mucosa rugosa; H = áreas hemorrágicas na mucosa; sc = sangue coagulado.

a administração da planta e o início dos sintomas, nos casos fatais, variou de 21h20min e 24h25min, a evolução, nos casos fatais, variou, em dois terços dos casos (8/12), entre 7 e 32 horas (nos casos restantes foi de quase 3 dias, 4 dias, 18 dias, em um somente 3 minutos); o prazo entre a administração da planta e a morte do animal variou, na maioria dos casos (8/12) entre 22h02min e 56h05min (nos casos restantes foi de 64 horas, 4 dias, 5 dias e 19 dias).

Com a planta procedente de Guaíba, o prazo entre a administração da planta e o início dos sintomas, nos 3 casos fatais (3/3), variou entre 17h30min e 23h33min; a evolução nesses casos, foi de 19h35min a 56h, e o prazo entre a administração da planta e a morte do animal, de 58h a 73h30min.

B. megapotamica var. weirii

Com as amostras procedentes de Chapecó, o prazo en-

tre a administração da planta e o início dos sintomas, variou na maioria dos casos fatais (4/5) entre 21h35min e 33h22min (no 5º caso foi 9h25min), a evolução variou entre 55 min e 22h54min) e o prazo entre a administração da planta e morte do animal variou entre 10h20min e 56h16min.

Nota-se aqui, especialmente através do experimento com o Coelho 1073, que recebeu uma dose muito elevada da planta (2 g/kg), que, quanto maior a dose, mais curtos são os prazos.

Com a planta procedente de Passo do Souza, o prazo entre a administração da planta e o início dos sintomas, nos casos fatais variou entre 21h35min e aprox. 33h10min, a evolução, na maioria dos casos fatais (5/6) variou entre 18min e 14h23min e o prazo entre a administração da planta e a morte do animal, variou entre 22h03min e 44h40min.

Com a planta procedente de Cochilha Rica, o prazo entre a administração da planta e o início dos sintomas

Quadro 3b. Principais alterações histológicas encontradas em coelhos intoxicados experimentalmente por *Baccharis megapotamica* var. *weirii*

Coelho n ^o (reg. SAP)	Planta	Dose g/kg	Estômago				Intestino delgado			Ceco					Ap. v. tl cl NCR	Sac. tl cl NCR	Cólon (mucosa)						Reto (mucosa)			Fígado		Baço tl cl NCR	
			Mucosa			Subm. E	C	H	gl cl NCR	Mucosa		Submucosa					Porção proximal			Porção distal			N	H	cl NCR	Tume- fação	Vacu- oliza- ção		
			N ^a	H	NCR cél. par.					N	H	E	H	Pn			N	H	gl cl NCR	N	H	gl cl NCR							
<i>Experimentos realizados com a planta procedente de Chapecó, SC</i>																													
1073 (24836-41)	294 B	2,0	-b	-	(+)	-	-	-	+(+)	-	-	-	-	-	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	++
1097 (24034-41)	301a f	0,68	+++	++	+	+	-	-	-	+++	+++	++(+)	++	+	++(+)	++	+	+	-	-	+	+(+)	++	++	+	+++	-	+(+)	
1101 ¹ (25059-66)	301a f	0,34	++	++	++	+	+	-	-	+++	+++	+++	++	+(+)	+	+(+)	++	++	-	-	+	+(+)	-	-	-	++	+	++	
1120 (25137-43)	301b m	0,34	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	
1112 (25120-21)	306 B	0,34			prejudicado					+++	+++	+++	++	+(+)							prejudicado					-	-	prejudicado	
<i>Experimentos realizados com a planta procedente de Passo do Souza, Lages, SC</i>																													
1098 (25042-49)	302 m	0,68	+++	+++	+	+	+++	+++	-	+++	+++	++	+	+	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	nc	+++	-	+(+)	
1102 (25067-74)	302-m	0,34	+(+)	+(+)	-	+	+	-	-	+++	+++	+++	++	(+)	+	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	
1099 (25050-57)	303 f	0,68	+++	+++	+	+(+)	+	-	-	+++	+++	+++	+++	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	+(+)	
1121 (25392-99)	305 B	0,34	+++	+++	+	+	-	-	-	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+	++	
1128 (25384)	313 m	0,34	+++	+++	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	nc	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	++	
1137 (25449-56)	313 m	0,17	+++	+++	+(+)	+++	+++	+++	-	+++	+++	+++	+(+)	-	-	+(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	
<i>Experimentos realizados com a planta procedente da Cochilha Rica, Lages, SC</i>																													
1079 (24981-87)	298 M	2,72	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	(+)+	(+)	-	-	+(+)	-	-	-	-	-	-	-	+(+)	-	++(+)
1087 (24988-94)	298 M	1,36	-	-	+	-	++	++	+++	-	(+)	++	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	++	-	+(+)	
1070 (24995-202)	298 M	0,68	++	-	+	-	++	-	-	+++	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	+	

aN = necrose; NCR = necrose com imagens de picnose e cariorexia; E = edema; H = hemorragias; Pn = polimorfonucleares; cél. par. = células parietais; Ap. v. = apêndice vermiforme; Sac. = sáculo redondo; tl = tecido linfóide; d = difuso; cl = centrolobular; zi = na zona intermediária; pl = na periferia do lóbulo.
b +++ Lesão acentuada; ++ moderada; + leve; (+) discreta; - ausência de lesão; nc = não coletado.

nos casos fatais, variou entre 5h30min e 29h40min, a evolução nos casos fatais variou entre 35min e 7h (no 3º caso não foi determinada) e o prazo entre a administração da planta e a morte do animal, variou entre 12h30min e 30h15min.

III. Sintomas da intoxicação

B. megapotamica var. *megapotamica*

Os sintomas mostrados pelos coelhos intoxicados por esta variedade consistiram em anorexia e perturbações digestivas manifestadas por fezes alteradas. As fezes inicialmente eram reduzidas de tamanho e quantidade, às vezes com modificações da forma (ficando ovais); depois tornavam-se moles, confluentes, e às vezes simplesmente pastosas. Ocasionalmente havia eliminação de fezes líquidas, às vezes sob forma de gotas. Frequentemente havia muco misturado às fezes e/ou sangue vivo e, por vezes, pseudomembranas. O muco era eliminado com textura comparável à de gelatina, vítreo, turvo, ou ainda líquido, ocasionalmente avermelhado (presença de sangue). Por vezes o animal eliminava gotas de sangue vivo. Todas essas alterações das fezes podiam ocorrer no mesmo animal, como também somente uma ou algumas delas. O animal geralmente ficava quieto, às vezes mantendo a parte anterior do corpo mais alta. No final das intoxicações com êxito letal, os animais ficavam com a cabeça baixa, e, às vezes, pouco antes de morrer, irrequietos, começavam a fazer movimentos desordenados, às vezes pulando na gaiola e morrendo logo a seguir.

B. megapotamica var. *weirii*

Nos coelhos intoxicados por esta variedade, os sintomas consistiram praticamente só de anorexia. Não havia alterações em relação às fezes, com exceção de 3 animais, que tiveram fezes pastosas e de 6 animais que eliminaram esferas de fezes menores que o normal. Os animais também ficavam quietos, com a cabeça baixa e, morriam após alguns movimentos desordenados.

IV. Achados de necropsia

B. megapotamica var. *megapotamica*

Os principais achados de necropsia nos coelhos intoxicados por esta variedade ocorreram no tubo digestivo. Em 10 dos 15 casos letais a mucosa estomacal estava vermelha. No intestino delgado praticamente não havia lesões. O ceco foi a parte mais freqüente e gravemente lesada. O seu conteúdo era líquido-pastoso em 12 casos, e em 2 destes, avermelhado; edema da parede, inclusive nas dobras, foi constatado 7 vezes. Em 12 casos foram observadas na mucosa áreas com alguns centímetros de diâmetro um pouco elevadas e rugosas, principalmente na região próxima à válvula fleo-cecal e na região próxima ao apêndice vermiforme do ceco. Essa lesão, na grande maioria dos casos, tanto era observada na mucosa situada entre as dobras, como na das dobras. Em 10 casos essas áreas eram de cor vermelho-escura, em um (Coelho 1083)

tinham cor acinzentado-amarelada, e em outro (Coelho 1134) parte tinha cor vermelho-escura e parte cor acinzentado-amarelada. Em um 13. animal (Coelho 1116) havia somente numerosas pequenas úlceras de cor acinzentado-amarelada. Em 9 casos um número variável de dobras apresentava cristas sob forma de um filete vermelho. A mucosa da porção proximal do cólon estava vermelha e rugosa em 1 caso; o conteúdo do cólon nessa parte era pastoso também em 1 caso. Já a mucosa da porção distal do cólon estava espessada e com a superfície rugosa em 6 casos e vermelha em 4 casos; o conteúdo do cólon nesta parte estava pastoso em 1 caso. A parede do reto era lesada de maneira semelhante; a mucosa estava rugosa em 6 animais e vermelha também em 6 casos. O conteúdo do reto era líquido avermelhado em 2 casos.

Em um animal (Coelho 1075), as lesões do tubo digestivo eram diferentes das anteriormente mencionadas; nesse caso a evolução foi mais crônica e havia dilatação na parte distal do cólon, com espessamento de parede. Na mucosa da parte distal do cólon e na do reto havia áreas difteroides amareladas e aderências entre as serosas do cólon e do ceco.

Em 14 dos 15 coelhos, o fígado apresentava coloração mais clara que o normal, percebendo-se, ao corte, a lobulação, com leve aspecto de mosqueado.

B. megapotamica var. *weirii*

Também nos experimentos com esta variedade, os principais achados de necropsia relacionavam-se ao tubo digestivo. Em 10 dos 14 casos, a mucosa estomacal estava vermelha. A mucosa do intestino delgado estava vermelha em 8 casos, e o conteúdo, em 4 deles, estava avermelhado e em 5 mucoso. Também na intoxicação por esta variedade o ceco era a parte mais lesada; o conteúdo era líquido-pastoso em 12 casos, sendo avermelhado em 2 deles; em um caso adicional o conteúdo do ceco era constituído por sangue escuro coagulado (Coelho 1102). A parede do ceco, inclusive as dobras, estava edemaciada em 9 casos. Na sua mucosa foram observadas, em 10 dos 12 casos, áreas com alguns centímetros de diâmetro, levemente elevadas e rugosas, principalmente na região próxima à válvula fleo-cecal e próximo ao apêndice vermiforme do ceco. Essa lesão quase sempre afetava tanto a mucosa situada entre as dobras, como a das dobras, sendo em todos os casos de coloração vermelho-escura. Em 8 casos um número variável de dobras apresentava as cristas sob forma de um filete vermelho. A porção proximal do cólon, bem como a parte distal, apresentavam principalmente alterações do conteúdo, que era pastoso ou líquido em 7 casos e, em 1 destes casos, adicionalmente avermelhado; em outro era de consistência normal, mas avermelhado. Em 2 animais havia áreas hemorrágicas na mucosa do cólon. O reto de 2 animais mostrava conteúdo pastoso, em 3 animais o conteúdo era líquido-pastoso, em um destes era avermelhado; estava avermelhado em um sexto.

Em 12 dos 14 coelhos, o fígado tinha coloração mais clara que o normal, percebendo-se, ao corte, a lobulação,



Fig. 1. Hemorragias e necrose extensas na parte superior e necrose das células parietais na parte mais profunda da mucosa do estômago. Intoxicação experimental por *B. megapotamica* var. *megapotamica* (Coelho 1074, SAP 24856 K), HE, obj. 16.

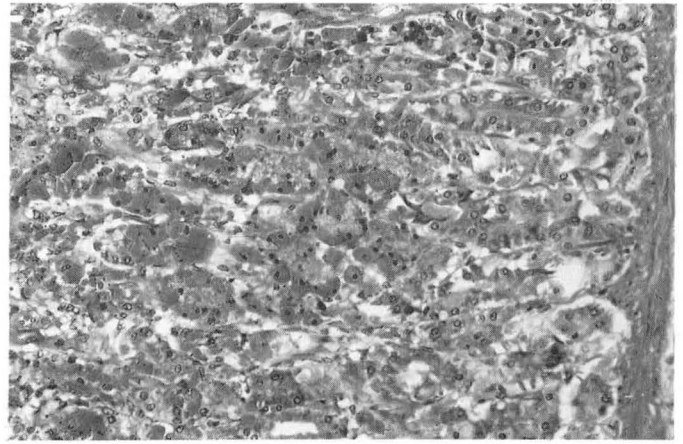


Fig. 2. Maior aumento da parte profunda da mucosa com necrose das células parietais (mesmo animal da figura anterior). HE, obj. 25.

com leve aspecto mosqueado. O baço estava aumentado de volume em 6 casos.

V. Alterações histológicas

B. megapotamica var. *megapotamica*

As principais alterações histológicas na intoxicação por esta variedade em coelhos foram verificadas no tubo digestivo, fígado e tecido linfóide.

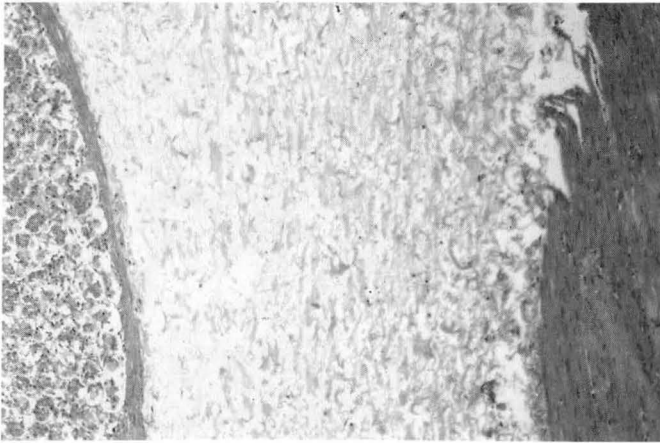
Na mucosa do *estômago* foram observados 2 tipos de lesões. Em primeiro lugar extensas áreas ocupadas por sangue, com desaparecimento do tecido normal (deixando poucos detritos nucleares), afetando sobretudo as partes superiores da mucosa, mas freqüentemente se aprofundando até a metade e um pouco mais da mucosa (hemorragias e necrose) (Fig. 1).

Esta lesão ocorreu em pouco mais da metade (9/15) dos casos. Em 4 desses casos (Coelhos 1082, 1085, 1088, 1109) havia na superfície da mucosa moderada a grande quantidade de detritos nucleares. Em um desses casos (Coelho 1088) a mucosa afetada era maciçamente invadida por hifas de fungos. A outra lesão da mucosa era necrose das células parietais na região intermediária da mucosa, caracterizada por imagens de picnose e cariorrexia e aumento da eosinofilia do citoplasma (Fig. 1, 2); essa lesão foi observada em 10 casos com intensidade moderada a acentuada e em um 11º caso (Coelho 1075) era apenas incipiente. Na *submucosa* foi constatado edema (Fig. 3) em 4 casos, em 3 destes (Coelhos 1074, 1088, 1116) com a presença de pequena quantidade de polimorfonucleares.

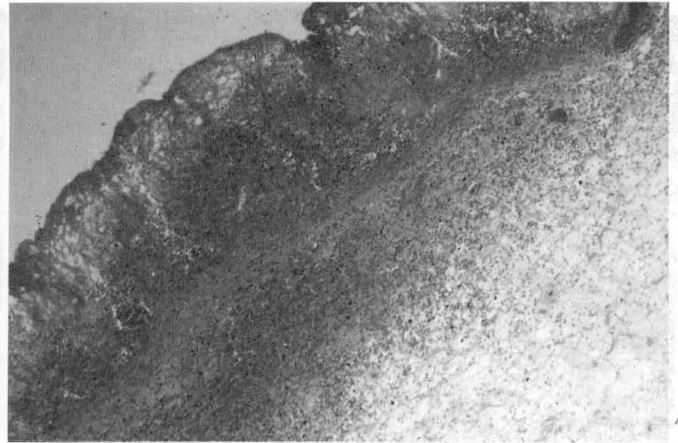
No *intestino delgado* (duodeno e jejuno) não foram observadas lesões, com exceção de um caso (Coelho 1076), em que, na parte profunda da própria do jejuno, foi verificada a presença de pequena quantidade de polimorfonucleares, em parte com os núcleos em cariorrexia.

Lesões muito acentuadas foram vistas no *ceco*. Em extensas áreas da *mucosa* haviam desaparecido todas as

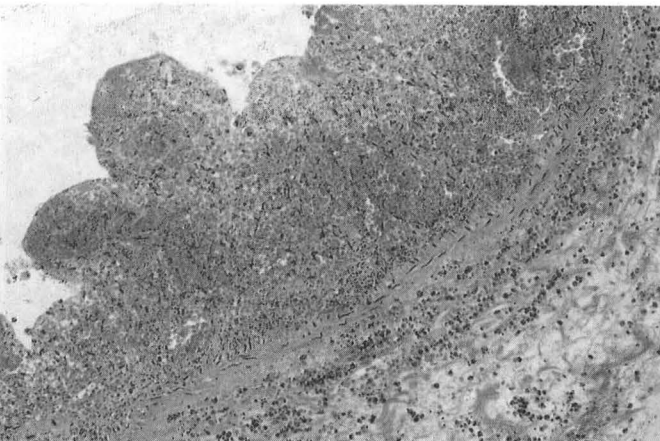
células epiteliais e boa parte do estroma, com substituição quase total por sangue (necrose hemorrágica) (Figs. 4, 5, 6). Esta lesão foi vista em 10 casos. Em um destes casos (Coelho 1076) havia, no meio do sangue, grande quantidade de detritos nucleares; nesse mesmo caso havia, nas áreas limftrofes às com hemorragia, necrose de algumas glândulas cujas células epiteliais tinham o núcleo em cariorrexia. Em 3 outros desses 10 casos (Coelhos 1088, 1065, 1068) a mucosa sofreu maciça necrose de coagulação em parte das áreas associadas às hemorragias. Em 2 casos adicionais (11º e 12º casos) (Coelhos 1083, 1134), havia necrose de coagulação (sem cariorrexia e sem detritos nucleares) sem a presença de hemorragia. As partes da mucosa não lesadas por hemorragia e necrose freqüentemente apresentavam leve edema (6 casos: Coelhos 1062, 1082, 1084, 1088, 1065, 1068). Havia na mucosa, sobretudo na parte profunda (junto à muscular da mucosa), presença de polimorfonucleares (Fig. 5), parte deles com imagens de cariorrexia; a quantidade desses polimorfonucleares foi pequena em 7 casos (Coelhos 1076, 1109, 1082, 1083, 1085, 1088, 1065), discreta em um (Coelho 1084), regular em outro (Coelho 1074) e grande em ainda outro (Coelho 1068). Na *submucosa* a alteração mais evidente foi edema (Fig. 4, 6), presente em 12 dos 15 casos, quase sempre com intensidade acentuada. Junto ao edema freqüentemente havia hemorragias (Fig. 4) (em 9 casos), de intensidade leve a acentuada, e presença de polimorfonucleares, parte desses com imagens de cariorrexia (9 casos) (Fig. 5, 6), em quantidades bastante variáveis. Em 3 casos (Coelhos 1083, 1068, 1134), verificou-se na submucosa edemaciada, adicionalmente, regular a grande quantidade de fragmentos nucleares, cuja origem não pode ser determinada (provavelmente eram também restos do polimorfonucleares). Na *muscular* havia hemorragias em 3 casos (Coelhos 1088, 1065, 1068) e presença de polimorfonucleares, parte em cariorrexia e ainda fragmentos nucleares, provavelmente restos de polimorfonucleares, em 7 casos (Coelhos 1074, 1109, 1082,



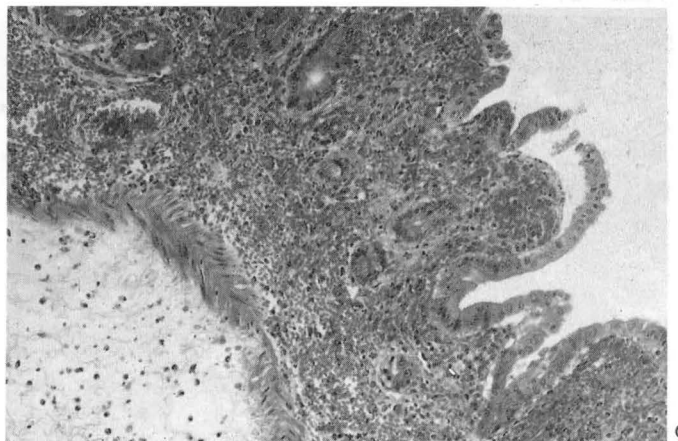
3



4



5



6

Fig. 3. Acentuado edema da submucosa do estômago. Intoxicação experimental por *B. megapotamica* var. *megapotamica* (Coelho 1074, SAP 24856 K). HE, obj. 10.

Fig. 5. Hemorragias e necrose extensas na mucosa do ceco. Na parte profunda da mucosa e na submucosa junto à muscular da mucosa, presença de polimorfonucleares, parte com cariorrexia, e ainda de fragmentos nucleares de origem não determinada. Intoxicação experimental por *B. megapotamica* var. *megapotamica* (Coelho 1068, SAP 24812 A). HE, obj. 16.

Fig. 4. Hemorragias e necrose extensas na mucosa e edema com hemorragias na submucosa do ceco. Intoxicação experimental por *B. megapotamica* var. *megapotamica* (Coelho 1065, SAP 24808 B). HE, obj. 10.

Fig. 6. Hemorragias e necrose extensas na mucosa e edema com presença de polimorfonucleares na submucosa do ceco. Intoxicação experimental por *B. megapotamica* var. *megapotamica* (Coelho 1065, SAP 24808 A). HE, obj. 25.

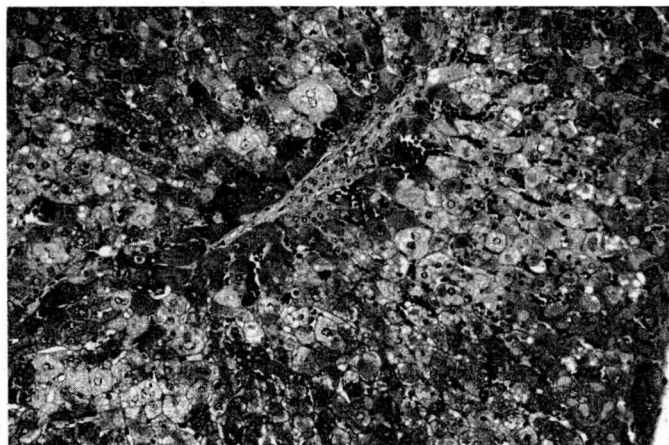
1083, 1134, 1065, 1068); necrose de Zenker das fibras musculares foi observada em 2 casos, de intensidade leve (Coelho 1109) e acentuada (Coelho 1134). Na *serosa* havia moderado edema em um caso (Coelho 1088), hemorragias de intensidade regular nesse mesmo caso, e presença de polimorfonucleares, às vezes em cariorrexia, e ainda fragmentos nucleares (restos de polimorfonucleares?) em 4 casos (Coelhos 1074, 1083, 1088, 1068).

Nas porções superiores da mucosa do *apêndice vermiforme do ceco* havia hemorragias com desaparecimento do tecido original (necrose) em 3 casos (Coelhos 1076, 1084, 1133). Havia necrose das células epiteliais de glândulas na parte superior da mucosa, caracterizada por imagens de picnose e cariorrexia, em 5 casos (Coelhos 1076, 1084, 1065, 1068, 1133). Adicionalmente, em 4 deles (Coelhos 1065, 1068, 1116, 1133) havia, na parte superior da mucosa, presença de polimorfonucleares, parte em cariorrexia. Em um caso adicional (5º caso) (Coelho 1082), havia na parte superior da mucosa áreas

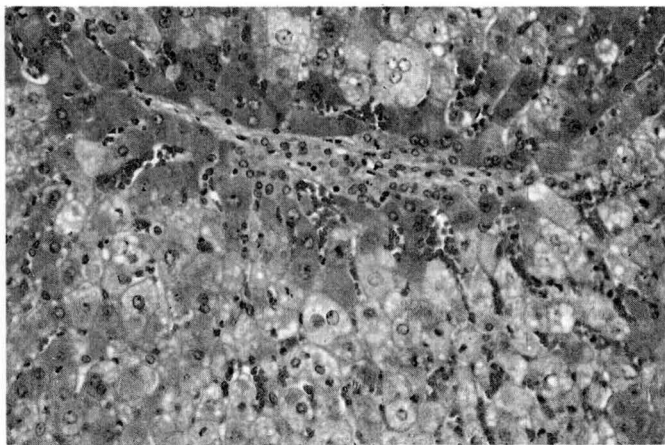
com grande quantidade de pequenos fragmentos nucleares cuja origem não pode ser determinada. Verificou-se necrose caracterizada por cariorrexia dos elementos linfóides (Fig. 10) nos *folículos do apêndice vermiforme do ceco* em 5 casos.

No *sáculo redondo* a única alteração constatada foi necrose caracterizada por cariorrexia dos linfócitos foliculares em 7 casos.

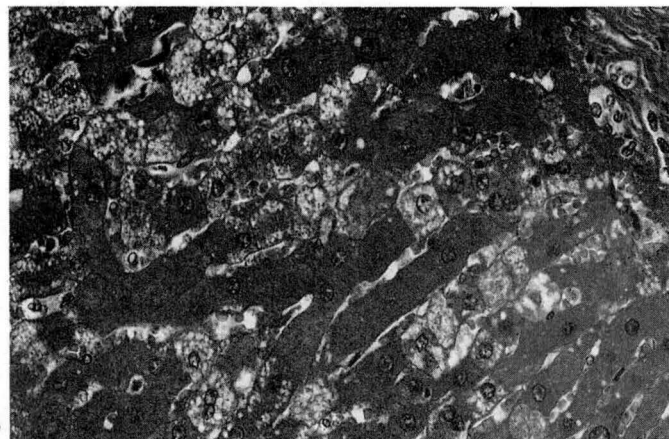
Na *porção proximal do cólon* não havia lesões na maioria dos casos. Porém em um caso (Coelho 1068), a parte superior da mucosa mostrava extensas áreas com hemorragias associadas à necrose (o tecido original desapareceu), com quantidade regular de polimorfonucleares em cariorrexia; havia, ainda neste caso, edema, hemorragias e a presença de polimorfonucleares na submucosa, muscular e serosa, sempre em grau leve. Em 3 outros casos (Coelhos 1076, 1109, 1116), as células epiteliais das glândulas da mucosa apresentaram necrose com imagens de cariorrexia, em grau leve a moderado. Em um destes



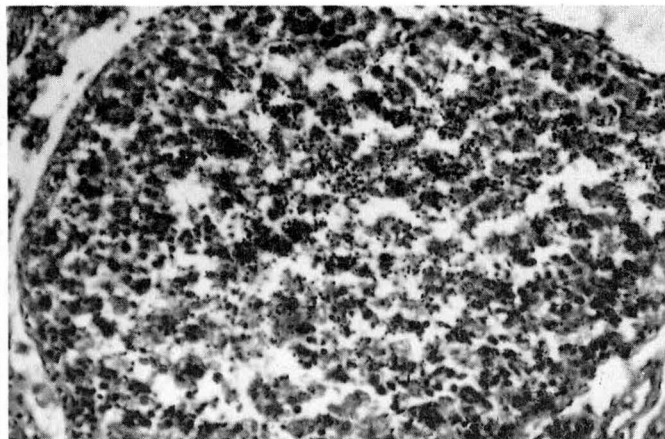
7



8



9



10

Fig. 7. Acentuada tumefação dos hepatócitos peri-portais. Intoxicação experimental por *B. megapotamica* var. *megapotamica* (Coelho 1065, SAP 24806 I). HE, obj. 16.

Fig. 8. Lesão da figura anterior com maior aumento. HE, obj. 25.

Fig. 9. Vacuolização dos hepatócitos na zona intermediária do lóbulo. Intoxicação experimental por *B. megapotamica* var. *megapotamica* (Coelho 1074, SAP 24856 E). HE, obj. 40.

Fig.10. Necrose caracterizada por cariorrexia das células linfóides do apêndice vermiforme. Intoxicação experimental por *B. megapotamica* var. *megapotamica* (Coelho 1074, SAP 24859 A). HE, obj. 40.

(Coelho 1116) havia presença de polimorfocitose na mucosa.

Na porção distal do cólon, ao contrário, foram verificadas muitas alterações. Observou-se necrose de coagulação da mucosa (com desaparecimento de sua estrutura e a presença de raros detritos nucleares) associada a hemorragias, nem sempre nas mesmas áreas, em 8 casos, geralmente afetando grandes extensões da mucosa. Em 7 casos a superfície da mucosa apresentava detritos nucleares que, em 2 casos (Coelhos 1088 e 1065), eram oriundos de polimorfocitose e nos outros 5 casos (Coelhos 1062, 1076, 1074, 1068, 1133) de origem não determinada. Em 2 casos adicionais havia só necrose, sem hemorragias (Coelhos 1083, 1134), no primeiro com muitos detritos nucleares de origem não determinada no meio da massa necrótica e na superfície da mucosa. No caso da evolução mais longa (Coelho 1075) havia necrose, fibrose e presença de polimorfocitose na parede do cólon e peritonite fibrinosa. Verificou-se necrose das glândulas da mucosa sob forma de cariorrexia de intensidade leve a moderada em 6 casos. Foi ainda constatada na profundidade

da mucosa, a presença de polimorfocitose, parte em cariorrexia, em 3 casos, sendo em um (Coelho 1076) em quantidade regular, em outro em pequena quantidade (Coelho 1133), e no terceiro (Coelho 1085) em quantidade discreta. Além destas alterações foram ainda observadas, na submucosa, edema, hemorragias e a presença de polimorfocitose em 10 casos (Coelhos 1062, 1074, 1082, 1083, 1085, 1088, 1133, 1134, 1065, 1068) (no Coelho 1068 parte dos polimorfocitose apresentaram cariorrexia e nos Coelhos 1083 e 1134 havia muitos detritos nucleares na submucosa, mas somente parte desses seguramente oriundos da necrose de polimorfocitose). Em um caso (Coelho 1134) a muscular apresentava necrose moderada e havia em seu permeio quantidade regular de detritos nucleares de origem não determinável.

Na mucosa do reto verificou-se necrose de coagulação (com desaparecimento de sua estrutura e a presença de raros detritos nucleares) em 7 casos, associada a hemorragias em 5 desses casos. Em um caso (Coelho 1088) havia na superfície da mucosa presença de muitos polimorfocitose, em 2 outros (Coelhos 1133, 1109) em quan-

tidade pequena. Foi observada necrose caracterizada por picnose e cariorrexia das células epiteliais das glândulas da mucosa em 5 casos, em grau acentuado (Coelhos 1076, 1133), em grau leve (Coelhos 1084, 1085) e em grau leve a moderado (Coelho 1109). Além destas alterações na mucosa foram observados na *submucosa*, edema, hemorragias e a presença de polimorfonucleares em 4 casos (Coelhos 1062, 1074, 1085, 1088).

No *fígado* a alteração mais importante foi tumefação difusa das células hepáticas (Fig. 7, 8), presente em 8 dos 15 casos, porém mais acentuadamente na região periportal (Fig. 7, 8). Nesta região, os hepatócitos, extremamente aumentados, ficaram com seu citoplasma claro, destacando-se esta região das outras nitidamente. Os seus núcleos também ficavam aumentados e vesiculares. Às vezes o processo passava à lise incipiente de hepatócitos. Em 2 casos adicionais (Coelhos 1133, 1134) a tumefação das células hepáticas foi difusa e leve. Frequentemente havia vacuolização dos hepatócitos, especialmente na região intermediária do lóbulo (Fig. 9). Às vezes havia leve congestão difusa ou centrolobular. Notava-se também, nos sinusóides hepáticos, a presença de certa quantidade de polimorfonucleares.

No *baço* havia congestão em 9 casos (Coelhos 1076, 1075, 1109, 1082, 1083, 1084, 1085, 1133, 1134). Necrose dos linfócitos foliculares, com figuras de picnose e cariorrexia, foi verificada em 9 casos, em 2 destes somente com discreta intensidade.

B. megapotamica var. *weirii*

Também na intoxicação por esta variedade as principais alterações histológicas ocorreram no tubo digestivo, fígado e tecido linfóide.

No *estômago* a lesão mais importante foi extensa necrose de coagulação da parte superior da *mucosa*, e grandes áreas de hemorragia nas camadas inferiores à necrose afetando 1/4 até 3/4 da mucosa em profundidade, lesão essa observada em 9 dos 14 casos. Em 7 desses (Coelhos 1097, 1101, 1098, 1099, 1121, 1128, 1137) havia a presença de detritos nucleares na superfície da mucosa. Além dessa extensa necrose na parte superior da mucosa, havia necrose difusa incipiente das células parietais na região intermediária da mucosa, caracterizada por picnose nuclear em 9 casos; em um 10º caso (Coelho 1101) essa necrose era um pouco mais intensa, porém quase restrito às células parietais nas proximidades das áreas que sofreram necrose acompanhada de hemorragia que, neste caso, eram mais focais. Ainda em 2 casos (Coelhos 1073, 1087) havia leve necrose das células epiteliais das glândulas na parte superior e/ou intermediária da mucosa, caracterizada por picnose e cariorrexia. Na *submucosa* do estômago foi verificado, em 7 casos, edema, com a presença de pequena quantidade de polimorfonucleares em 4 destes (Coelhos 1097, 1098, 1102, 1099).

No *duodeno* foram observadas congestão da mucosa em 6 casos (Coelhos 1101, 1098, 1099, 1137, 1087, 1070), em 2 destes (Coelhos 1098, 1137) adicionalmente

hemorragias; em um estes últimos (Coelho 1137) havia concomitantemente necrose de coagulação; necrose das células epiteliais das glândulas da mucosa, caracterizada por picnose e cariorrexia, foi verificada em 4 casos (Coelhos 1073, 1079, 1087, 1128). Na profundidade da mucosa foi observada a presença de pequena quantidade de polimorfonucleares, parte em cariorrexia, em 2 casos (Coelhos 1097 e 1101).

No *jejuno* observou-se congestão da mucosa em 3 casos (Coelhos 1102, 1087, 1070); em um destes (Coelho 1087) havia adicionalmente hemorragias; necrose das células epiteliais das glândulas da mucosa, caracterizada por picnose e cariorrexia, foi verificada em 2 casos (Coelhos 1079, 1087); edema da submucosa do íleo foi visto em 2 casos (Coelhos 1079, 1087).

Também na intoxicação por esta variedade da planta lesões muito acentuadas foram vistas no *ceco*. Em extensas áreas da *mucosa* haviam desaparecidos todas as células epiteliais e boa parte do estroma, com substituição quase total por sangue (necrose hemorrágica) (10 dos 14 casos). Em 2 outros casos (Coelhos 1073, 1087) observou-se somente, em pequeno grau, necrose das células epiteliais das glândulas da mucosa, caracterizada por imagens de picnose e cariorrexia. Nas áreas sem hemorragia/necrose havia edema da mucosa, geralmente de intensidade leve e só em um de intensidade moderada (Coelho 1101). A presença de pequeno número de polimorfonucleares na profundidade da mucosa foi observada em 2 casos (Coelhos 1120, 1097), sem cariorrexia em ambos. A *submucosa* apresentou edema em 11 casos, na maioria deles, acentuado. Em 8 desses casos havia hemácias associadas ao edema e em 6 havia a presença de polimorfonucleares, em quantidade discreta a leve/moderada sem cariorrexia. Na *muscular* havia hemorragias em grau moderado em um caso (Coelho 1101) e na *serosa* leve edema e pequenas hemorragias em outro caso (Coelho 1102).

Na parte superior da mucosa do *apêndice vermiforme do ceco* havia hemorragias e necrose de coagulação em 2 casos (Coelhos 1097, 1101, no último com a presença de muitos polimorfonucleares, parte em cariorrexia). Em um caso (Coelho 1098) havia somente focos de necrose de coagulação sem hemorragias e em outro (Coelho 1102) leves hemorragias sem necrose, na parte superior da mucosa. Verificou-se necrose caracterizada por imagens de cariorrexia dos elementos linfóides nos *fóliculos no apêndice vermiforme do ceco* em 6 casos, de intensidade leve a moderada/acentuada.

No *sáculo redondo*, a única alteração constatada foi necrose caracterizada por cariorrexia dos elementos linfóides dos *fóliculos* em 9 casos, sendo que em 4 deles somente de intensidade discreta.

Na mucosa da *porção proximal do cólon* foram observadas hemorragias com desaparecimento dos elementos normais do tecido (hemorragia e necrose), em 3 casos. Em um desses casos (Coelho 1101) havia ainda leve edema da serosa e presença de pequena quantidade de polimorfonucleares na submucosa, muscular e serosa. Foi

ainda observada necrose das células epiteliais das glândulas da mucosa com imagens de picnose e cariorexia, em grau discreto a leve/moderado, em 2 casos.

Na parte superior da mucosa da *porção distal do cólon* foi observada a ocorrência de leves hemorragias em 2 casos e necrose das células epiteliais das glândulas da mucosa com imagens de picnose e cariorexia, em grau leve/moderado nesses mesmos 2 casos e adicionalmente em outro.

Na parte superior da mucosa do *reto* foram observadas hemorragias e necrose de coagulação de intensidade moderada em um caso (Coelho 1097) e, neste mesmo caso, leve necrose das células epiteliais das glândulas da mucosa caracterizada por imagens de picnose e cariorexia. Havia ainda na mucosa do reto, em um caso (Coelho 1120), presença de pequena quantidade de polimorfonucleares. Na submucosa do reto foi verificado, em um caso (Coelho 1097), leve edema e presença de polimorfonucleares em quantidade pequena/regular.

No *fígado* a alteração mais importante, só ausente em um caso (Coelho 1112), foi tumefação difusa das células hepáticas, porém mais acentuada na região periportal. Nesta região os hepatócitos, extremamente aumentados, mostravam citoplasma claro, destacando-se esta área das outras nitidamente. Os núcleos também apresentavam-se aumentados de volume e vesiculares. Às vezes o processo

evoluiu para lise em alguns hepatócitos. Em 4 casos havia vacuolização dos hepatócitos e, na maioria dos animais, também congestão leve, geralmente difusa. Nos sinusóides hepáticos notava-se, em 2 casos (Coelhos 1101, 1087), presença de certa quantidade de polimorfonucleares.

No *baço* havia congestão em 9 casos (Coelhos 1073, 1097, 1101, 1121, 1128, 1137, 1079, 1087, 1070). Leve a moderada necrose dos elementos linfóides foliculares, caracterizada por cariorexia, foi verificada em 10 casos.

Toxidez da planta armazenada

Os resultados dos experimentos realizados para verificar se *B. megapotamica* (var. *megapotamica* e var. *weirii*) mantém sua toxidez, quando armazenada, constam no Quadro 4. Verificou-se que quando guardada em saco de pano, a planta manteve a toxidez nas 4 amostras testadas (2 da var. *megapotamica* e 2 da var. *weirii*); quando guardada moída em vidros fechados com tampa plástica, as 2 amostras de var. *weirii* mantiveram sua toxidez, porém as 2 amostras da var. *megapotamica* tinham perdido um pouco do efeito tóxico (menos da metade). Uma amostra adicional da var. *weirii*, que foi submetida à experimentação somente na forma moída, guardada em vidro fechado com tampa plástica, 2 1/2 meses após o 1º experimento, tinha perdido um pouco da toxidez (Coelho

Quadro 4. Experimentos em coelhos com *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii*, armazenada

Planta (Proc.)	Ciclo	Modalidade da planta	Coleta da planta	Dose mínima que causou morte			Dose maior que não causou morte			
				Data do exp.	Dose g/kg	Coelho nº (SAP)	Data adm.	Dose g/kg	Coelho nº (SAP)	Intensidade intoxicação
LC 297 (S. Maria)	B ^a	Moída recentemente	13.7.90	9.8.90	2,0	1083 (24942-48)	8.8.90	1,36	1080	+ ^b
"	"	Moída há tempo	"	23.8.91	3,4	1142 (25460-67)	15.8.91	2,72	1140	+
"	"	Guardada em saco	"	9.8.91	2,0	1124 (25368-75)		-		
LC 300 (S. Maria)	B	Moída recentemente	10.12.90	17.12.90	2,0	1088 (25075-82)	10.12.90	1,36	1100	+++
"	"	Moída há tempo	"	22.8.91	2,72	1141 (25468-75)	9.8.91	2,0	1127	++(+)
"	"	Guardada em saco	"	9.8.91	2,0	1126 (25376-83)		-		
LC 302 (Passo S.)	m	Moída recentemente	19.9.90	12.12.90	0,34	1102 (25067-74)	17.12.90	0,17	1106	S.s.
"	"	Moída há tempo	"	12.8.91	0,34	1130 (25425-32)		-		
"	"	Guardada em saco	"	12.8.91	0,34	1129 (25433-40)		-		
LC 303 (Passo S.)	f	Moída recentemente	19.9.90	10.12.90	0,68	1099 (25050-57)	12.12.90	0,34	1103	+
"	"	Moída há tempo	"	12.8.91	0,68	1132 (25417-24)		-		
"	"	Guardada em saco	"	12.8.91	0,68	1131 (25401-08)		-		
LC 306 (Chapecó)	B	Moída recentemente	20.12.90	1.2.91	0,34	1112 (25120-21)	3.2.91	0,17	1115	S.s.
"	"	Moída há tempo	"	19.9.91	0,68	1138 (25491-98)	12.4.91	0,34	1117	+++
							9.8.91	0,34	1122	S.s.
							16.9.91	0,34	1143	S.s.

^aB = planta em brotação; f = planta feminina em floração; m = planta masculina em floração.

^b +++ Sintomas acentuados; ++ moderados (regulares); + leves; (+) discretos; S.s. = sem sintomas.

Quadro 5. Experimentos em coelhos com *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii*, administrações repetidas

Coelho nº	Planta (Proc.)	Ciclo	Data da administração	Dose (g/kg)	Desfecho
1100	LC 300 (S. Maria)	B ^a	10.12.90	1,36	Adoeceu +++ ^b
"	"	"	1.2.91	2,0	Adoeceu +
"	"	"	12.4.91	4,0	Morreu (25156-62)
1114	LC 305 (Passo S.)	B	2.2.91	0,17	Adoeceu ++
"	"	"	5.3.91	0,34	Morreu (25130-36)
1123	LC 309 (S. Maria)	f	9.8.91	2,72	Adoeceu ++(+)
"	"	"	16.9.91	2,72	Adoeceu ++
"	"	"	16.10.91	2,72	Adoeceu ++(+)
"	"	"	25.11.91	2,72	Morreu (25529-36)
1127	LC 300 (S. Maria)	B	9.8.91	2,0	Adoeceu ++(+)
"	"	"	16.9.91	2,0	Adoeceu ++
"	"	"	16.10.91	2,0	Morreu (25506-13)

a B = planta em brotação; f = planta feminina em floração.

b +++ Sintomas acentuados; ++ moderados (regulares); + leves; (+) discretos.

1117), e 7 1/2 meses após o 1º experimento metade ou menos da metade (Coelhos 1138 e 1143) da toxidez.

Tolerância

Os resultados dos experimentos para verificar se coelhos, com repetidas administrações da planta, adquirem tolerância, constam no Quadro 5. Constatou-se que os animais não adquiriram tolerância.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Baccharis megapotamica revelou-se tóxica para o coelho. Apesar das 2 variedades submetidas à experimentação, var. *megapotamica* e var. *weirii*, terem demonstrado a mesma ação, algumas diferenças foram observadas. No que diz respeito à toxidez, a var. *weirii* foi aproximadamente 5 vezes mais tóxica que a var. *megapotamica*, fazendo-se a comparação sempre entre as plantas na mesma fase de crescimento e do mesmo sexo. A evolução na intoxicação pela var. *weirii* tendia a ser um pouco mais curta. Na sintomatologia, uma manifestação importante na intoxicação pela var. *megapotamica* foi a modificação das fezes (diarréia com sangue e muco), manifestação esta praticamente ausente na intoxicação pela var. *weirii*. Entre os achados de necropsia na intoxicação pela var. *weirii* havia lesões no intestino delgado, o que não ocorreu na intoxicação pela variedade *megapotamica*. No ceco, onde foram verificadas as alterações mais importantes na intoxicação pelas 2 variedades, praticamente não havia diferenças. No cólon e reto observaram-se lesões difteróides na intoxicação pela var. *megapotamica*, que não ocorreram na intoxicação pela var. *weirii*. No fígado, as alterações foram idênticas na intoxicação pelas 2 variedades da planta. Esplenomegalia foi observada mais frequentemente na intoxicação pela var. *weirii*. Ao exame histopatológico, necrose e hemorragias na parte superior da mucosa do estômago foram observadas na intoxicação

pelas 2 variedades, porém nas áreas de necrose causadas pela var. *weirii* havia maior incidência de detritos nucleares na superfície da mucosa. Uma diferença de maior importância foi a necrose bem mais acentuada das células parietais da mucosa estomacal na intoxicação pela variedade *megapotamica*; na intoxicação pela var. *weirii* essa lesão foi apenas incipiente. No intestino delgado havia, em alguns casos, congestão e hemorragias na mucosa, alterações não observadas na intoxicação pela var. *megapotamica*. No ceco, onde ocorreram as lesões mais importantes, essas foram essencialmente as mesmas na intoxicação por ambas as variedades. A única diferença foi que os infiltrados polimorfonucleares estavam presentes em maior número de casos e em maior quantidade na intoxicação pela var. *megapotamica*. Além disto, parte deles estava em cariorrexia, ao contrário do que foi observado na intoxicação pela var. *weirii*. Situação semelhante em relação aos polimorfonucleares foi observada também no apêndice vermiforme do ceco e no cólon. Na parte proximal do cólon havia maior incidência de hemorragias e necrose na intoxicação pela var. *weirii*. Já na mucosa do cólon distal e reto ocorreram hemorragias e necrose, com a presença de detritos nucleares na superfície da mucosa e necrose das células epiteliais das glândulas da mucosa com incidência muito mais elevada na intoxicação pela var. *megapotamica*. Em relação ao tecido linfóide, a intensidade da necrose dos elementos linfóides foi mais acentuada na intoxicação pela var. *weirii*. As alterações hepáticas, principalmente a tumefação dos hepatócitos, foram basicamente as mesmas nas intoxicações pelas duas variedades da planta.

É oportuno fazer-se uma comparação da toxidez de *B. megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* com a de *B. coridifolia*, que também causa um quadro clínico-patológico muito semelhante em coelhos (Döbereiner et al. 1976). As 3 plantas possuem ação semelhante, porém há algumas diferenças.

A dose tóxica de *B. coridifolia* foi de 0,68 a 1,36 g/kg com a planta coletada na época da floração (março) e de 1 a 4 g/kg com a planta coletada na época de brotação (novembro), portanto variou de acordo com a fase de crescimento. A dose tóxica das duas variedades de *B. megapotamica* foi constante, independentemente da sua fase de crescimento, do sexo da planta ou de sua procedência, entretanto houve uma grande diferença na dose letal entre as duas variedades. Enquanto que para a var. *megapotamica* a dose letal oscilou entre 2 e 4 g/kg, para a var. *weirii* ela esteve entre 0,34 e 0,68 g/kg.

A evolução na maioria dos casos de intoxicação por *B. coridifolia* foi aguda, variando entre 4h e 22h20min, portanto semelhante à observada na intoxicação pela var. *weirii* e mais curta que a verificada com a var. *megapotamica*. O prazo total desde a administração da planta até a morte dos animais variou, na maioria dos casos de intoxicação por *B. coridifolia*, entre 12h e 36h50min, isto é, foi mais curto que na maioria dos casos de intoxicação pelas 2 variedades de *B. megapotamica*. Por outro lado

houve alguns casos de intoxicação por *B. coridifolia*, em que a evolução e o prazo total desde a administração da planta até a morte dos animais foram bem mais longos, de alguns dias, o que também foi observado em alguns casos de intoxicação por *B. megapotamica* var. *megapotamica*, mas não pela var. *weirii*.

O principal sintoma na intoxicação por *B. coridifolia* em coelhos foi a modificação da consistência das fezes, variando de pastosas a líquidas, às vezes com muco, muito semelhante ao que foi observado na intoxicação por *B. megapotamica* var. *megapotamica*, na qual, além destas modificações das fezes, freqüentemente havia a presença de sangue; já na intoxicação pela var. *weirii*, a diarreia ocorreu em poucos casos.

Os achados de necropsia da intoxicação por *B. coridifolia* foram semelhantes aos da intoxicação pelas 2 variedades de *B. megapotamica*, e se relacionavam principalmente ao tubo digestivo (estômago, ceco e cólon) e fígado. Na intoxicação por *B. coridifolia* não foi observado o avermelhamento da mucosa do intestino delgado visto na intoxicação por *B. megapotamica* var. *weirii*, nem necrose difteróide do cólon e reto encontrada na intoxicação pela var. *megapotamica*.

Da mesma forma, as alterações histológicas foram semelhantes na intoxicação pelas 3 plantas, com pequenas variações. Como maiores diferenças verificou-se que na intoxicação por *B. coridifolia* não havia necrose das cé-

lulas parietais da mucosa do estômago, vista principalmente na intoxicação por *B. megapotamica* var. *megapotamica*, nem congestão e hemorragias encontradas na mucosa do intestino delgado na intoxicação pela var. *weirii*, e sobretudo não ocorreu necrose do tecido linfóide (baço, apêndice vermiforme e ceco), como na intoxicação por ambas as variedades de *B. megapotamica*.

Uma comparação dos quadros anátomo-patológicos entre bovinos e coelhos intoxicados por *B. megapotamica* mostra que, em ambas as espécies animais, é afetado principalmente o tubo digestivo, com a diferença que no bovino as lesões mais importantes são encontradas nos pró-ventrículos e no coelho ocorrem no ceco. Com exceção desta restrição, pode-se concluir que o coelho serve como animal de pequeno porte, sensível à intoxicação por *B. megapotamica*, para continuação de estudos sobre a sua toxidez.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Döbereiner J., Rezende A.M.L. & Tokarnia C.H. 1976. Intoxicação experimental por *Baccharis coridifolia* em coelhos. *Pesq. Agropec. Bras.*, Sér. Vet. 11:27-35.
- Peixoto P.V., Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Peixoto C.S. 1987. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em coelhos. *Pesq. Vet. Bras.* 7(4):117-129.
- Tokarnia C.H., Peixoto P.V., Gava A. & Barros C.S.L. 1992. Intoxicação experimental por *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* (Compositae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 12(1/2):19-31.

TIPOS DE COLÔNIA E CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DE CULTURAS DE *Clostridium chauvoei* ISOLADAS DE BOVINOS NO BRASIL

FERNANDO GOMES F. LIMA

ABSTRACT.- Lima F.G.F. 1992. [Colony types and biochemical characteristics of *Clostridium chauvoei* isolated from cattle in Brazil.] Tipos de colônia e características bioquímicas de culturas de *Clostridium chauvoei* isoladas de bovinos no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 12(3/4):65-69. Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970, Brazil.

The morphological variation of colonies and biochemical characteristics of *Clostridium chauvoei*, isolated from the metatarsial and metacarpal bones of bovines with a history of blackleg, were investigated. The 59 cultures isolated contained 7 distinct morphological types of *C. chauvoei* and only 10 (16,95%) showed Type IV growth according to Zeissler (1928). All cultures hydrolyzed gelatin, had no proteolytic activity and produced neither lecithinase nor lipase. Only 51 (86,44%) of the 59 cultures showed saccharolytic activity (lactose fermented). The biochemical profile was increased to 29 biochemical tests. The results indicate the morphological heterogeneity and biochemical variations of *C. chauvoei* in our environment.

INDEX TERMS: Blackleg, *Clostridium chauvoei*, colonial variation, biochemical characteristics.

SINOPSE.- A variação morfológica de colônias e do comportamento bioquímico de culturas de *Clostridium chauvoei*, isoladas de ossos metatarsianos e metacarpianos de bovinos com histórico clínico de carbúnculo sintomático, foi analisada. Das 59 culturas estudadas, observaram-se 7 tipos morfológicos distintos de *C. chauvoei* e somente 10 (16,95%) apresentaram crescimento do tipo IV. Todas as culturas isoladas hidrolizaram a gelatina, não apresentaram atividade proteolítica e nem produziram lecitinase e lipase. Das 59 culturas testadas 51 (86,44%) fermentaram a lactose (atividade sacarolítica). O perfil bioquímico foi ampliado para 29 provas bioquímicas. Estes resultados demonstraram a heterogeneidade morfológica das colônias de *C. chauvoei* em nosso meio, apresentando variações nos seus parâmetros bioquímicos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Carbúnculo sintomático, *Clostridium chauvoei*, variação morfológica de colônias, comportamento bioquímico.

INTRODUÇÃO

Clostridium chauvoei é bactéria anaeróbia, hemolítica, Gram-positiva, formadora de esporos, causadora do carbúnculo sintomático ou da "manqueira".

Zeissler (1928) descreveu as colônias formadas por *C. chauvoei*, em placas de agar sangue glicosado, como formas circulares, forma regular de botão de madrepérola, representando o tipo IV de crescimento de Zeissler e dada como característica da espécie. Também foram observadas colônias irregulares, com bordos denticulados e superfície rugosa. Fortner (1929) declarou que, além dos

aspectos descritos por Zeissler (1928), poderiam-se encontrar colônias de *C. chauvoei* de forma irregular, espraçadas, em forma de véu fino. Wolters & Dehmal (1928) observaram, também, irregularidades nas colônias de *C. chauvoei*, sendo observadas constantemente colônias de elevação umbilicada e superfície rugosa. Viljoen & Scheuber (1926), procuraram explicar a variabilidade nas colônias de *C. chauvoei* pelo tempo de estocagem dos meios de cultivo utilizados e idade das culturas testadas para a semeadura em placas, enquanto McEwen (1926) e Rottgardt (1932) abstiveram-se de quaisquer explicações. Cato et al. (1986) observaram um certo pleomorfismo, principalmente em culturas antigas, com aparecimento de colônias em forma de limão. No Brasil, Rodrigues (1936) sugeriu que a variação entre as colônias de *C. chauvoei* poderia ser devido principalmente às tendências individuais de cada amostra estudada. Mais recentemente Saraiva (1984) descreveu as colônias formadas por *C. chauvoei*, em meios semi-líquidos, como formas naviculares, podendo apresentar-se como formas leveduriformes. Entretanto, Santos & Mós (1985) descreveram as colônias como geralmente circulares, com bordos inteiros, podendo apresentar bordos irregulares de coloração branco-acinzentada. Já, Bier (1985) descreveu as colônias de *C. chauvoei* como colônias pequenas, circulares, achatadas, podendo emitir expansões sob forma de filamentos entrelaçados ou mesmo coalescendo num véu contínuo, já observados por Fortner, em 1929.

Na identificação bioquímica de *C. chauvoei* existem inúmeras contradições na literatura mundial que dificultam a sua precisa classificação. Segundo Nicolet (1985),

¹ Aceito para publicação em 29 de janeiro de 1992.

² Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970; bolsista do CNPq.

C. chauvoei não fermenta a lactose, o que contradiz todos os achados da literatura, o mesmo com relação a não fermentação da sacarose (Mette 1980).

O presente trabalho objetivou verificar a variação morfológica da colônia de *C. chauvoei* isolada em nosso meio, após a fixação da idade das culturas, tempo de estocagem e espessura da camada das placas de agar Columbia sangue, bem como o período e sistema de incubação anaeróbio, que eventualmente, poderiam influenciar na formação das colônias, para o diagnóstico seguro do carbúnculo sintomático e estabelecer seus parâmetros bioquímicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Isolamento

As 59 culturas de *Clostridium chauvoei* utilizadas no presente trabalho foram isoladas no Setor de Microbiologia, da Unidade de Apoio ao Programa Nacional de Pesquisa em Saúde Animal da Embrapa, Rio de Janeiro, de medula óssea de metacarpos e metatarsos de bovinos.

O material coletado da medula óssea foi suspenso em salina estéril e dividido em 2 alíquotas das quais uma foi aquecida diretamente por 10 minutos, em banho-maria a 80°C. Ambas foram semeadas em meio de caldo de fígado glicosado (Tarozzi 1905) e em placa de agar Columbia (Firma Merck), este acrescido de 5% de sangue desfibrinado estéril de carneiro. Os tubos com meios de Tarozzi foram aquecidos previamente em banho-maria durante 10 minutos e resfriados imediatamente, antes da inoculação e incubação a 37°C, por 48 horas em estufa bacteriológica. As placas de agar Columbia sangue foram incubadas em atmosfera anaeróbia (Jarra do Sistema GasPak, Firma Becton & Dickinson Cockeysville, Maryland, USA), junto com um envelope ativado de H₂ e CO₂ e catalizadores de paládio, próprios do Sistema GasPak, a 37°C por 48 horas. Da vegetação obtida nos tubos de caldo de Tarozzi foram feitas novas placas de agar Columbia sangue. Paralelamente, as colônias isoladas em anaerobiose, foram repicadas em 2 placas de agar Columbia sangue para incubação em atmosfera microaerófila e em aerobiose, para determinação da condição de anaeróbio obrigatório do microrganismo estudado.

Para observação do tamanho e da forma dos elementos bacterianos, bem como a reação tintorial e a eventual presença de esporos, foram realizadas colorações pelo método de Gram modificado (Kopeloff & Beerman 1922), tanto das culturas obtidas dos tubos de caldo de Tarozzi, como as placas de agar Columbia sangue.

Provas biológicas

Após a comprovação de pureza da cultura, foi semeada uma colônia da amostra testada em tubo de caldo de Tarozzi. Após 48 horas de incubação a 37°C em estufa bacteriológica, foi inoculado 1 ml do material obtido do caldo de Tarozzi, acrescido de 1 gota de ácido láctico³ em cobaio adulto (300g), por via intramuscular.

Após a morte do animal procedeu-se a necrópsia com observação do tipo de edema, formação de gás e a coleta de fragmento de fígado e baço para o possível reisolamento do microrganismo. Foram realizadas também impressões de fígado para observação microscópica do agente pela coloração do método de Gram modificado.

Provas bioquímicas

Para identificação das culturas isoladas pela fermentação de carboidratos foi utilizado um meio de tioglicolato sem dextrose e sem indicador⁴, na concentração de 5%, acrescido de 2% de extrato de levedura³, e os diferentes açúcares na concentração final de 1%. Foram utilizados os seguintes açúcares: ramosse⁴, trealose⁴, galactose³, glicose⁴, frutose⁴, rafinose⁴, celobiose³, arabinose³, lactose⁴, dulcitol⁴, maltose³, manose⁴, sacarose⁴, sorbitol⁴, xilose⁴ e inositol³. Foram utilizados, também, os álcool-açúcares glicerina³ e manitol³, na concentração de 1%. Para as provas de nitrato⁴, triptofano⁴, esculina³ e uréia⁴ foram utilizadas as concentrações 0,2%, 0,002%, 1% e 1%, respectivamente.

O meio de tioglicolato foi distribuído em tubos de 15 x 125mm, sem tubos de Durham, em porções de 8ml, e esterilizados sob pressão a 120°C por 30 minutos. A substância a ser testada foi adicionada assepticamente ao meio de tioglicolato, de forma que a concentração final fosse de 1%. Os carboidratos foram esterilizados sob forma de solução aquosa a 10%, por aquecimento em vapor flúente, por 30 minutos, 3 dias sucessivos. Após a semeadura profunda de 1 ou mais colônias da cultura crescida, em anaerobiose, da placa de agar Columbia sangue, em tubos de caldo de meio de tioglicolato, contendo os diferentes carboidratos nas diferentes concentrações, acrescentou-se uma camada de parafina estéril, para evitar a entrada de ar. Os tubos de meio de tioglicolato inoculados foram então incubados por 8 dias, a 37°C, em estufa bacteriológica. Após a incubação foram acrescentadas 3 gotas de uma solução aquosa de 0,2% de azul de bromotimol aos diferentes tubos de tioglicolato contendo os diferentes açúcares, álcool-açúcares, esculina e uréia. A solução aquosa de 0,2% de azul de bromotimol foi obtida de 2g de azul de bromotimol³, 50ml de solução de 1/10 NaOH e 950ml de água destilada.

Ao acréscimo da solução de azul de bromotimol aos tubos de tioglicolato não semeados e nem incubados, obtém-se uma coloração verde, indicando assim a reação negativa. A reação positiva foi indicada sempre pela mudança de coloração do meio de tioglicolato de verde para amarelo-avermelhado, após o acréscimo do indicador azul de bromotimol. As provas de fermentação de carboidratos foram baseadas nos trabalhos de Mette (1980), sendo modificadas conforme descrição acima.

A verificação de lecitinase e lipase foi efetuado em meio de gema de ovo (McClung & Toabe 1947), modificado segundo técnica descrita no Anaerobic Bacteriology CDC Laboratory Manual (Dowell & Hawkins 1974). As placas foram examinadas após 5 dias de incubação em atmosfera anaeróbica, evidenciando-se a degradação de gema de ovo. *C. perfringens* (CCM 5744-Type A) e *C. sporogenes* (NTC 532) serviram de controles positivos para a prova de lecitinase e lipase, respectivamente. A atividade proteolítica sobre a caseína e a sacarolítica sobre a lactose foi verificada em meio de agar leite (Davis 1959, Klose 1968a,b). Foi utilizado também, o meio líquido de leite tornasol para a verificação da atividade sacarolítica das culturas estudadas. A produção de H₂S, teste de urease e hidrólise da gelatina foram realizadas segundo técnicas descritas no Anaerobe Laboratory Manual (Holdeman et al. 1977).

Varição morfológica das colônias

Para o estudo de variação morfológica foram selecionadas 59 culturas de *C. chauvoei*. Foram fixados os seguintes fatores: ida-

³ Fa. Merck, Darmstadt, RFA.

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

de da cultura em 7 dias, quantidade de inóculo semeado equivalente ao conteúdo de 1 alça de platina, tempo de estocagem de 48 horas e espessura de 0,3 cm de camada das placas de agar Columbia sangue, bem como a duração de incubação de 48 horas das mesmas placas, em jarras de anaerobiose do sistema de GasPak.

As placas de agar Columbia sangue foram preparadas e guardadas por 24 horas em jarras de GasPak, junto com um envelope ativado de H₂ e CO₂ e catalizadores de paládio, mantidas a temperatura ambiente. Após as provas biológicas e bioquímicas, as 59 culturas foram semeadas em tubo de caldo de Tarozzi e incubadas a 37°C, por 48 horas, em estufa bacteriológica, sendo que os tubos de caldo de Tarozzi foram aquecidos previamente, em banho-maria, durante 10 minutos e esfriados, imediatamente antes do uso. Após vegetação e verificação de pureza de cada cultura crescida no meio de caldo de Tarozzi, foram semeadas placas de agar Columbia sangue e incubadas em atmosfera anaeróbia a 37°C, por 48 horas. Após o crescimento, foi inoculada uma colônia de cada cultura de *C. chauvoei* estudada em novas placas uniformes de agar Columbia sangue que foram selecionadas previamente e incubadas a 37°C, por 48 horas, em jarras de GasPak. Após o crescimento levou-se as placas ao microscópico estereoscópico para análise da morfologia colonial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela observação do Quadro 1, verifica-se a grande variação morfológica das colônias de *C. chauvoei*, após a fixação de idade das culturas testadas e uniformização das placas de agar Columbia sangue, e incubação das mesmas, por 48 horas, em jarras de anaerobiose, sistema de GasPak. Já em 1926, Viljoen & Scheuber, procuraram atribuir a variabilidade nas colônias de *C. chauvoei* às diferenças de umidade do meio e idade das culturas testadas para a semeadura em placa. Das 59 culturas testadas de *C. chauvoei*, somente 10 (16,95%) apresentaram crescimento regular, em forma circular de botão de madrepérola, forma de crescimento IV de Zeissler (1928), colônia esta situada no centro de uma escavação do meio, e dada como característica da espécie. O mesmo autor observou também colônias de *C. chauvoei* de crescimento irregular com bordos denticulados e superfície rugosa, o que confirma nossos achados em 7 (11,86%) das 59 culturas testadas. Além da observação desses 2 tipos morfológicos de crescimento em placa, evidenciaram-se mais 5 tipos morfológicos diversos de crescimento expansivo, entre

eles o tipo espreado, observados também por Fortner (1929) e Rodrigues (1936). Seis (10,17%) das 59 culturas de *C. chauvoei* apresentaram diferentes tipos morfológicos de crescimento numa mesma placa de agar Columbia sangue (Quadro 1). Esse achado foi semelhante ao de Bier (1985) que observou colônias de *C. chauvoei* em forma de limão ou pera, ou em formas "monstruosas".

Santos & Mós (1985), descreveram as colônias de *C. chauvoei* como geralmente circulares, com bordos irregulares, translúcidas, brilhantes e de coloração branco-

Quadro 1. Tipos de colônias de Clostridium chauvoei encontrados em placas de agar Columbia sangue, incubadas em anaerobiose, sistema de Jarra GasPak, por 48 horas a 37°C

Amostras		Morfologia colonial
Nº	%	
18	30,51	Colônias de forma irregular, com bordos ondulados, achatadas porém com elevação centro-saliente, superfície rugosa e foscas.
10	16,95	Colônias de forma circular, forma regular de botão de madrepérola, com bordos inteiros, forma de crescimento IV de Zeissler, umbilicadas, superfície lisa e brilhantes.
8	13,56	Colônias de forma irregular, com bordos franjados, espreadas, umbilicadas, superfície rugosa e foscas.
7	11,86	Colônias de forma irregular, com bordos denticulados, com elevação convexa baixa, superfície rugosa e foscas.
6	10,17	Diferentes tipos morfológicos na mesma placa.
6	10,17	Colônias de forma irregular, com bordos lobados, achatadas em forma de losangos, superfície lisa e foscas.
2	3,39	Colônias de forma irregular, com bordos franjados, espreadas em forma de véu fino, superfície rugosa e foscas.
2	3,39	Colônias de forma risóide, com bordos franjados, espreadas, estrutura filamentosas, superfície rugosa e foscas.

Quadro 2. Principais características encontradas das 59 culturas de Clostridium chauvoei isoladas

Amostras Nº	Coloração %	Crescimento Columbia Agar			Hémolise Columbia Agar Sangue	Agar Gema de Ovo		Hidrólise da Gelatina	Digestão da Caseína	Leite tornas- solado	Produção de indol	Redução de nitrito	Produção de H ₂ S	Teste da urease	
		Gram	Esporo	A ^a		M	An								Lipase
18	30,51	+	OS	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-
10	16,95	+	OS	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-
8	13,56	+	OS	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-
7	11,86	+	OS	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-
6	10,17	+	OS	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-
6	10,17	+	OS	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-
2	3,39	+	OS	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-
2	3,39	+	OS	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-

^a A = crescimento aeróbio, M = crescimento microaerófilo, An = crescimento anaeróbio, OS = esporo oval/subterminal.

Quadro 3. Resultado das provas de fermentação de carboidratos das 59 culturas de *Clostridium chauvoei* isoladas

Provas bioquímicas	Reação positiva		Reação negativa		Reação incompleta	
	N ^a	%	N	%	N	%
Arabinose			59	(100,00)		
Celobiose			59	(100,00)		
Dulcitol			59	(100,00)		
Esculina			59	(100,00)		
Frutose	45	(76,27)	10	(16,95)	4	(6,78)
Galactose	46	(77,97)	13	(22,03)		
Glicose	57	(96,61)			2	(3,39)
Glicerina	3	(5,09)	55	(93,22)	1	(1,69)
Inositol			59	(100,00)		
Lactose	51	(86,44)	8	(13,56)		
Maltose	52	(88,14)	6	(10,17)	1	(1,69)
Manitol			59	(100,00)		
Manose	49	(83,05)	10	(16,95)		
Rafinose			59	(100,00)		
Ramose			59	(100,00)		
Salicina			58	(98,31)	1	(1,69)
Sorbitol	2	(3,39)	55	(93,22)	2	(3,39)
Sacarose	53	(89,83)	2	(3,39)	4	(6,78)
Trealose	1	(1,69)	58	(98,31)		
Xilose			59	(100,00)		

^a N = número de culturas.

acinzentada. Bier (1985) descreveu as colônias de *C. chauvoei*, crescidas em placas de agar sangue acrescidas de glicose, como geralmente colônias pequenas, circulares, chatas, o que seria a característica da espécie (forma de crescimento IV de Zeissler, 1928), podendo emitir expansões sob forma de filamentos entrelaçados ou mesmo

coalescendo num véu contínuo, vindo a confirmar nossos achados em 8 (13,56%) das 59 culturas estudadas, o que confunde as colônias de *C. chauvoei* com outras espécies de bactérias do mesmo gênero (Quadro 1). Um frequente pleomorfismo, em especial em meios semi-líquidos, com aparecimento de formas naviculares, outras intumescidas e às vezes, formas leveduriformes, foi observado por Saraiva (1984). Cato et al. (1986) observaram também esse pleomorfismo, principalmente em culturas antigas, com aparecimento de formas em limão, não observados neste trabalho. Entretanto, em 6 (10,17%) das 59 culturas testadas foram encontradas colônias em forma de losangos (Quadro 1).

Observaram-se também, após a semeadura direta do material coletado de medula óssea de bovino em placa de agar Columbia sangue e posterior incubação por 48 horas em atmosfera anaeróbia, pequenas colônias regulares do tipo circular, elevadas, brilhantes, cercadas por um halo de hemólise, extremamente parecidas com micro organismos hemolíticos do gênero *Streptococcus*.

Os resultados obtidos no Quadro 2 não diferiram muito daqueles obtidos por outros autores (Dowell Jr. & Hawkins 1974, Smith & Hobbs 1974, Holdeman et al. 1977, Werner 1985). Entretanto, no presente trabalho, verificaram-se variações nas provas de fermentação de carboidratos (Quadro 3).

Em propriedades gerais dos clostrídios, Saraiva (1984) citou que a fermentação de sacarose por *C. chauvoei* serviria para diferenciá-lo de *C. septicum* que não a fermentaria, e a fermentação de salicina serviria igualmente

Quadro 4. Comparação da fermentação de carboidratos por *Clostridium chauvoei* de diferentes autores

Carboidratos	Autores										
	1 ^a	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11 ^c
Arabinose		-	-	-			-				-
Celobiose			d	-			+				-
Dulcitol			d								-
Esculina		-	-	-			+		-	-	-
Frutose			+	-			+				-
Galactose			+				+				-
Glicose	+ ^b	+	+	+	+	+	+	+		+	+
Glicerina		-	-	-		-	-				-
Inositol			-	-							-
Lactose	+	+	+	(+)	+	+	+	+	-	(+)	
Maltose		+	+	+	+	+	+	+		+	
Manitol		-	-	-	-	-	-	-		-	-
Manose				(+)	+		d			(+)	
Rafinose				-			-				-
Ramose				-			-				-
Salicina		-	-	-	-	-	+	-			-
Sorbitol				-							-
Sacarose	+	+	+	(+)	+	+	-	+		(+)	
Trealose				-			-			-	-
Xilose		-	-	-			-			-	-

^a 1 Cowan (1974), 2 Dowell Jr & Hawkins (1974), 3 Smith & Hobs (1974), 4 Holdeman et al. (1977), 5 Smith (1977), 6 Blobel & Schliesser (1980), 7 Mette (1980), 8 Smith & Dowell Jr (1980), 9 Nicolet (1985), 10 Werner (1985), 11 Lima (1992).

^b+ Reação positiva, - negativa, (+) positiva fraca, d = diferente.

^c Reação (90-100% das culturas).

para diferenciá-lo de *C. septicum* que a fermentaria, o que contradiz os resultados obtidos por Mette (1980). No presente trabalho, a fermentação da sacarose foi verificada somente em 53 (89,83%) das 59 culturas testadas, já a fermentação da salicina em 58 (98,31%), conforme Quadro 3.

No Quadro 4, pode-se comparar os resultados da fermentação de carboidratos por *C. chauvoei* de diferentes autores, com as suas respectivas interpretações com os nossos achados.

Os resultados deste trabalho demonstraram que *C. chauvoei*, independentemente da idade das culturas e uniformização dos meios de cultivos sólidos, apresenta as mais diferentes formas de crescimento e que a fermentação de carboidratos não é um critério preciso de diferenciação com outras espécies de clostrídios existentes no nosso meio, sendo necessárias outras provas complementares.

Agradecimentos.— Deixamos aqui nossos agradecimentos ao Prof. Dr. Hans Blobel, Diretor do Institut für Bakteriologie und Immunologie, Justus Liebig-Universität Giessen, Alemanha, pelo fornecimento das amostras padrão de *C. chauvoei* (NCTC 8070), *C. septicum* (CCM 5743), *C. perfringens* (CCM 5744-Typ A) e *C. sporogenes* (NCTC 532).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blobel H. & Schliesser Th. 1980. Handbuch der Bakteriellen Infektionen bei Tieren. Bd. II. Gustav Fischer, Stuttgart, S. 756.
- Bier C. 1985. Microbiologia e Imunologia, 24ª edição. Comp. Melhoramentos, S. Paulo. 1234 p.
- Cato E.P., George W.L. & Finegold S.M. 1986. Genus *Clostridium*. In: Sneath P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E. & Holt J.G. (ed.), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. II. Williams & Wilkins, Cambridge, p. 66-69.
- Cowan S.T. 1974. The anaerobic bacilli (*Clostridium*, *Eubacterium*). In: Cowan S.T. & Steel K.J. (ed.), Manual for the Identification of Medical Bacteria, 2nd ed. Cambridge Univ. Press., Cambridge, p. 66-69.
- Davis J.G. 1959. Milk Testing, 2nd ed. Dairy Industries, London.
- Dowell Jr. V.R. & Hawkins T.M. 1974. Laboratory Methods in Anaerobic Bacteriology. CDC-Laboratory Manual, Center for Disease Control, Atlanta, Georgia. 96 p.
- Fortner J. 1929. I. Zur Technik der Anaeroben-Züchtung. II. Zur Differenzierung der Anaerobier. Zbl. Bakt. I. Orig. 110:233-255.
- Holdeman L.V., Cato E.P. & Moore W.E.C. 1977. Anaerobe Laboratory Manual. 4th ed, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia.
- McClung L.S. & Toabe R. 1947. The egg yolk plate reaction for the presumptive diagnosis of *Clostridium sporogenes* and certain species of the gangrene and botulism groups. J. Bact. 53(1):139-147.
- McEwen A.D. 1926. Quarter-evil and braxy: studies regarding immunity. J. Comp. Path. Therap. 39(4):253-283.
- Mette H. 1980. Das Vorkommen von Clostridien in Produkten von Tierkörperbeseitigungsanstalten mit einem Beitrag zur Eignung von Selektivnährböden zum Clostridiennachweis. Inaug. Diss. Vet. Med., Universität Hannover.
- Nicolet J. 1985. Kompendium der Veterinärmedizinischen Bakteriologie. Verlag Paul Parey, Berlin. 280 S.
- Klose J. 1968. Harmonisierung des Speiseisrechtes in der EWG. Süßwaren 14:778-780.
- Klose J. 1968. Harmonisierung des Speiseisrechtes in der EWG. Süßwarschriften für Speiseeis in den Mitgliedsstaaten der EWG. Neufassung Anfangs III zum Entwurf vom 19.12.1966. Süßwaren 14:780-782.
- Kopeloff N. & Beerman P. 1922. Modified Gram stains. J. Infect. Dis. 31:480-484.
- Rodrigues C. 1936. Estudos sobre *Clostridium chauvoei*. Variações na morfologia das colônias. Arch. Inst. Biológico, S. Paulo, 19(7):235-244.
- Rottgardt A. 1932. Carbunclo sintomático de los ovinos a *Bacilo chauvoei* tipo ovino y bovino. Boln Minist. Agric. Nat. Argentina 31:102-135.
- Santos M.A.A.D. & Mós E.N. 1985. Manual de Bactérias Anaeróbias. Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, SP. 170 p.
- Saraiva D. 1984. *Clostridium chauvoei*. In: Guerreiro et al. (ed.), Bacteriologia Especial. Editora Sulina, Porto Alegre, RS. 492 p.
- Smith L.D.S. 1977. The Clostridia. In: Laskin A.J. & Lechevalier H.A. (ed.) Handbook of Microbiology, Vol. I - Bacteria, 2nd ed. CRC Press, p. 337-346.
- Smith L.D.S. & Dowell Jr. V.R. 1980. *Clostridium*. Chapter 37. In: Lennette E.H., Balows A., Hausler W.J. & Truant J.P. (ed.) Manual of Clinical Microbiology. 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, DC.
- Smith L.D.S. & Hobbs G. 1974. Genus III - *Clostridium*. In: Buchanan R.E., Gibbons N.E. (ed.). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th ed. Williams & Wilkins Comp., Baltimore, p. 551-572.
- Tarozzi G. 1905. Über ein leicht in aerober Weise ausführbares Kulturmittel von einigen bis jetzt für strenge Anaeroben gehaltenen Keimen. Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 38:619-624.
- Viljoen P.R. & Scheuber J.R. 1926. Black-quarter in South Africa with special reference to improved methods of protective inoculation. Dept. Agric. South Africa, 11th e 12th Reports of the Dir. Vet. Educ. Res.: 499-570.
- Werner H. 1985. Anaerobier-Infektionen: Pathogenese, Klinik, Therapie, Diagnostik. 2. Auflage. Georg Thieme, Stuttgart. 199 S.
- Wolters K.L. & Dehmel H. 1928. Zur Züchtung und Differenzierung der anaeroben Sporenbildner unter besonderer Berücksichtigung der Rauschbrand und Pararuschbrand-Bazillen. Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 108(5/6):264-275.
- Zeissler J. 1928. Anaerobenzüchtung. In: Kolle W., Krauss R. & Uhlenhuth P. (ed.), Handbuch der Pathogenen Mikroorganismen. Bd. 10. 3. Aufl., Gustav Fischer, Jena, S.30-145.

DETERMINAÇÃO DA ETIOLOGIA DE GRANULOMAS ACTINOMICÓIDES EM BOVINOS NO RIO GRANDE DO SUL ATRAVÉS DA HISTOQUÍMICA¹

RITA DENISE NIEDERAUER WEISS² e MURILO NOGUEIRA SANTOS³

ABSTRACT.- Weiss R.D.N. & Santos M.N. 1992. [Histochemical diagnosis of actinomycotic-like granulomas in cattle from southern Brazil.] Determinação da etiologia de granulomas actinomicóides em bovinos no Rio Grande do Sul através da histoquímica. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 12(3/4):71-76. Dept² Patologia, Univ. Fed. St³ Maria, 97119-900 Santa Maria, RS, Brazil.

The etiology of actinomycotic-like lesions from 254 lymph nodes of cattle from southern Brazil was determined by histochemistry. The diagnosis of these lesions in hematoxylin-eosin (H-E) preparations was based upon the pyogranulomatous inflammatory reaction with centrally located sulphur grains. The lesions stained by the MacCallum-Goodpasture technique showed 60.36% Gram-positive coccoid bacteria (*Staphylococcus*), 36.62% Gram-negative cocco-bacillus (*Actinobacillus lignieresii*) and 2.72% Gram-positive filamentous branching elements (*Actinomyces bovis*). Fite-Faraco stain demonstrated the acid-fast properties and Gomori stain, the morphological features to distinguish between *Actinomyces bovis* and *Nocardia* sp. Gram-positive cocci were diagnosed as botryomycosis which occurred predominantly in preescapular, parotid and femoral lymph nodes. The presence of Gram-negative coccobacillary elements indicated *Actinobacillus* sp., whereas the finding of Gram-positive filamentous branching elements indicated *Actinomyces* sp. These latter two were more frequently found in retropharyngeal and sublingual lymph nodes. Small differences in the morphology of the bacterial colonies may help to establish the etiological diagnosis in H-E preparations. The Gram method, however, allows an accurate distinction between *Actinobacillus lignieresii* and *Actinomyces bovis* in cases where fresh material for bacteriological isolation is no longer available. Of 467 other cases originally diagnosed as tuberculosis in gross inspection at the slaughter house, 10.23% were histologically confirmed as actinomycotic-like granulomas. This certainly causes economic losses due to the condemnation of carcasses.

INDEX TERMS: Actinomycotic-like granuloma, botryomycosis, actinobacillosis, actinomycosis, granulomatous lymphadenitis, histochemistry, cattle, pathology.

SINOPSE.- Foi determinada a etiologia dos "granulomas actinomicóides" através da histoquímica em 254 materiais de linfonodos de bovinos do Rio Grande do Sul. O diagnóstico de granuloma actinomicóide foi baseado na inflamação piogranulomatosa, contendo, na porção central, os grânulos de enxofre, observados na coloração pela hematoxilina e eosina (H-E). Ao material com essa lesão foi aplicada a técnica de MacCallum-Goodpasture que evidenciou uma incidência de 60,36% de bactérias cocóides Gram-positivas (*Staphylococcus*), 36,62% de coco-bacilos Gram-negativos (*Actinobacillus lignieresii*) e de 2,72% de elementos filamentosos, ramificados, Gram-positivos (*Actinomyces bovis*) como constituintes do grão de enxofre. Nos casos de actinomicose aplicaram-se as técnicas de Fite-Faraco e Prata de Gomori para a diferenciação entre *Actinomyces bovis* e *Nocardia* sp. Os casos de botriomicose foram vistos principalmente nos linfonodos pré-escapulares, parotídeos e femurais; os de actino-

micose e actinomicose nos retrofaringes e sublinguais. Pequenas diferenças do aspecto das colônias podem auxiliar no diagnóstico etiológico nas preparações coradas pela H-E, mas o emprego das técnicas de Gram permite a diferenciação entre *Actinobacillus lignieresii* e *Actinomyces bovis* quando não se dispõe de culturas. Adicionalmente observou-se pelo estudo histológico de outros 467 casos, que 10,23% deles foram diagnosticados como granuloma actinomicóide, porém interpretados macroscopicamente, na inspeção, como tuberculose o que certamente leva a prejuízos econômicos pela condenação das carcaças.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Granuloma actinomicótico, botriomicose, actinobacilose, actinomicose, linfadenite granulomatosa, histoquímica, bovinos, patologia.

INTRODUÇÃO

Bactérias dos gêneros *Actinomyces*, *Actinobacillus*, *Nocardia* e *Staphylococcus* produzem lesões granulomatosas, histologicamente, muito semelhantes quando vistas pela coloração de rotina de hematoxilina e eosina (H-E). O termo "granuloma actinomicóide" foi aqui introduzido para designar as lesões histológicas causadas por esses microorganismos, quando vistas pela H-E.

¹ Aceito para publicação em 25 de fevereiro de 1992.

² Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária Área de Patologia Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, 97119-900, Rio Grande do Sul.

³ Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria.

Winslow & Steen (1964) denominaram de micetoma actinomicóide a lesão constituída de um foco central de supuração dentro do qual são encontrados os chamados grãos ou grânulos de enxofre, formados pela colônia do agente etiológico, rodeados por material eosinofílico homogêneo em forma de clavias e circundados por reação inflamatória granulomatosa. Nessa reação predominam macrófagos, linfócitos, células gigantes e fibroplasia (Backer & Durham 1957, Franco 1960, Kubo et al. 1982). Para Londero et al. (1986), o micetoma é a designação coletiva de um grupo de micoses e actinobacterioses subcutâneas, causadas por várias espécies de fungos e actinomicetos aeróbicos e caracterizadas pelo grânulo de enxofre. Outras denominações e definições são dadas para as lesões causadas por aqueles agentes, mas todas tomam como base o grão de enxofre e a reação granulomatosa (Baker & Durham 1957, Franco 1960, Winslow & Steen 1964, Kubo et al. 1981).

Bactérias do gênero *Streptococcus* e de *Pseudomonas aeruginosa* e *Corynebacterium pyogenes* (*Actinomyces pyogenes*) são também capazes de produzir lesões actinomicóides (Shanan & Davis 1942, Greenblatt et al. 1964, Winslow & Steen 1964).

A actinomicose é causada pela bactéria *Actinomyces bovis*, descrita por Cohn, em 1875 (citado por Emmons 1935), como um organismo filamentosamente ramificado. O termo actinomicose, descrevendo lesões da língua e mandíbula em bovinos, foi introduzido por Bollinger, em 1877 (citado por MacFadyean 1932). Harz, em 1878 (apud Peabody & Seabury 1957), descreveu com detalhe as lesões de actinomicose e deu o nome de *Actinomyces bovis* ao agente, achando tratar-se de um fungo, mas que atualmente é considerado uma bactéria (Lacaz et al. 1984).

Organismos em forma de cocobacilos, Gram-negativos, em grãos de enxofre, atingindo tecidos moles, foram descritos e chamados de *Actinobacillus* por Lignieres e Spitz, em 1912 (apud Shanan & Davis, 1942). Em 1910, Brumpt (apud Bosworth, 1923) classificou a bactéria como *Actinobacillus lignieresii*.

A botriomicose foi descrita pela primeira vez por Bollinger, em 1870 (apud Auger 1948), como complicação de feridas de castração em eqüinos e as lesões foram interpretadas como produzidas por fungos. Foi Magrau, em 1910 (apud Greenglatt et al. 1964), quem verificou a origem bacteriana do processo, confirmada, experimentalmente, por Drake et al. (1943) quando reproduziram a lesão com *Staphylococcus aureus*.

Por muito tempo, a presença do grânulo de enxofre foi critério para o diagnóstico de actinomicose, isto porque os primeiros pesquisadores demonstraram que estes grânulos eram característicos de *Actinomyces bovis* (Davies & Torrance 1930) e, em bovinos, a lesão ocorre principalmente na cavidade bucal e linfonodos da cabeça e região cervical. Os processos mais antigos são caseosos, amarelados e, por vezes, mineralizados, assemelhando-se à tuberculose (Franco 1960) o que pode levar à condenação de carcaças.

A determinação do agente causador dos granulomas actinomicóides só é possível através de culturas, mas métodos histoquímicos permitem verificar a presença de: bactérias cocóides Gram-positivas como *Staphylococcus*; cocobacilos Gram-negativos como *Actinobacillus lignieresii*; bactérias filamentosas Gram-positivas como *Actinomyces bovis* e a diferenciação deste, de *Nocardia* sp, como agentes produtores da lesão em tecidos fixados.

O objetivo da pesquisa foi verificar a etiologia dos granulomas actinomicóides, através das características morfológicas e tintoriais dos agentes encontrados nos grânulos de lesões em linfonodos de bovinos do Rio Grande do Sul, determinar sua frequência e linfonodos mais atingidos, bem como estabelecer a correspondência entre a suspeita clínica e o diagnóstico histológico de tuberculose.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram usados 254 linfonodos de bovinos com diagnóstico microscópico de granuloma actinomicóide, que provinham de matadouros frigoríficos de 35 municípios do Rio Grande do Sul. Esses linfonodos foram fixados em formol a 10%, processados em parafina e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (H-E), pelo método de Gram, modificação de Mac Callum-Goodpasture (Behmer et al. 1976), para a verificação dos agentes etiológicos e propriedades histoquímicas.

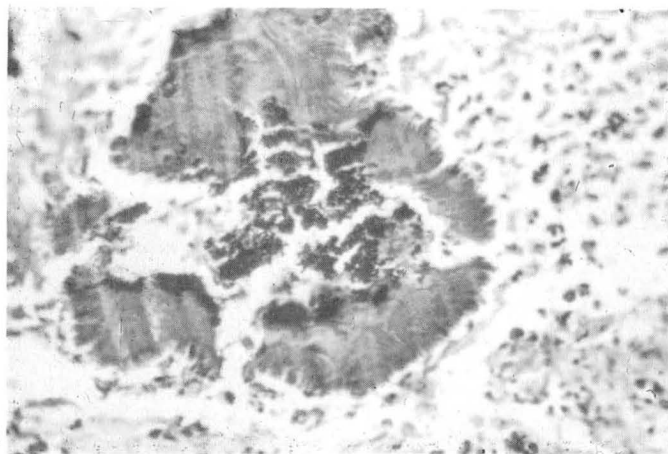
Para os casos onde apareceram elementos filamentosos foram aplicadas a técnica da metenamina-nitrato de prata de Gomori (Thompson 1966) para o estudo da morfologia das bactérias, e a técnica de Fite-Faraco (Thompson 1966) para a verificação do fenômeno do álcool-ácido resistência verificado em *Nocardia*, o que possibilita a sua diferenciação de *Actinomyces bovis*.

Associada a este estudo, fez-se a comparação entre o diagnóstico clínico que acompanhava o material e o histológico de outros 467 casos de linfonodos com granuloma tuberculóide para se verificar a correspondência diagnóstica.

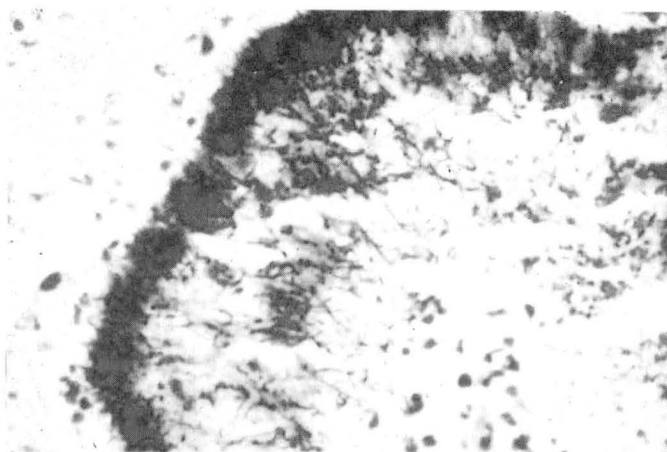
RESULTADOS

Através da coloração de Gram, modificado por MacCallum-Goodpasture foi possível a identificação de três diferentes tipos de agentes causadores dos granulomas actinomicóides, segundo a morfologia e propriedades tintoriais. O diagnóstico de botriomicose foi feito naquelas lesões onde havia cocos Gram-positivos (Fig. 1) e esses casos corresponderam a 60,63% das lesões. A presença de cocobacilos Gram-negativos nas colônias permitiu o diagnóstico de actinobacilose num total de 36,62% dos casos. O diagnóstico de actinomicose foi baseado na presença de elementos filamentosos, finos e ramificados que se entrelaçavam no interior da colônia e eram Gram-positivos e não álcool-ácido resistentes (Fig. 2). Esses agentes foram vistos em 2,75% dos casos estudados e os linfonodos mais atingidos foram os pré-escapulares, parotídeos e femurais na botriomicose, os retrofaríngeos e sublinguais na actinobacilose e actinomicose (Quadro 1).

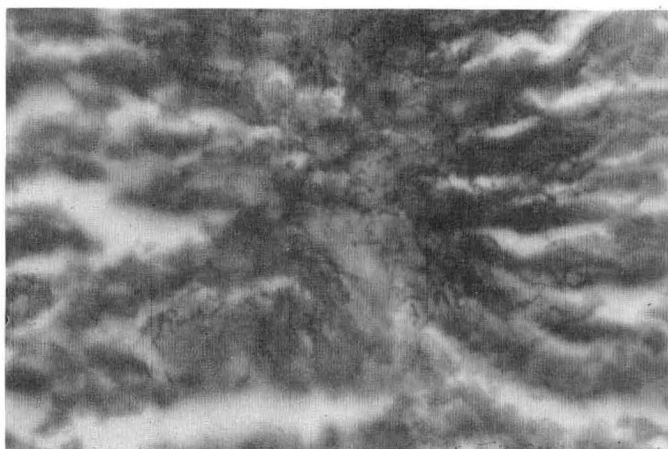
Pela técnica de MacCallum-Goodpasture, na botriomicose, as clavias coraram-se de vermelho, na maioria das vezes, e continham no seu interior cocos azuis, geral-



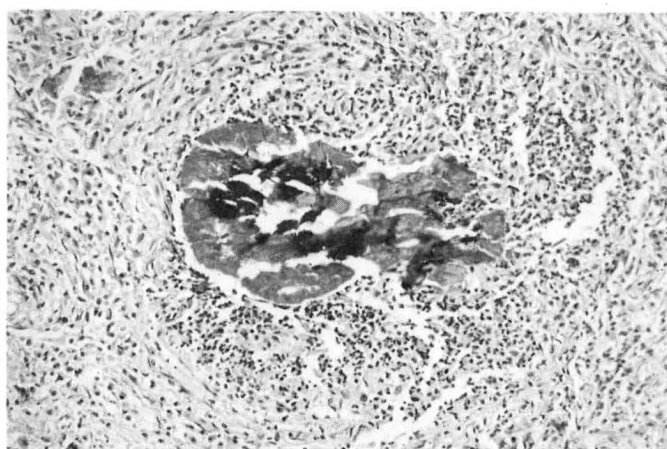
1



2



3



4

Fig. 1. Aspecto microscópico de granuloma actinomicóide em linfonodo de bovino, causado por bactéria cocóide. No centro do grânulo de enxofre aparece aglomerado basofílico do microrganismo e clavas eosinofílicas circundantes. A reação inflamatória próxima da colônia é constituída principalmente de polimorfonucleares neutrófilos. H-E, obj. 40.

Fig. 3. Actinomicose em linfonodo de bovino. Observam-se elementos filamentosos, ramificados bem nítidos na impregnação pela prata. Metenamina-nitrato de prata de Gomori, obj. 100.

Fig. 2. Actinomicose em linfonodo de bovino. Parte da colônia mostrando um emaranhado de bactérias filamentosas, Gram-positivas. As clavas são malformadas e partes delas são vistas dentro do grânulo. McCallum-Goodpasture, obj. 40.

Fig. 4. Granuloma actinomicóide em linfonodo de bovino. Aspecto da colônia envolta por neutrófilos e reação granulomatosa. H-E, obj. 16.

Quadro 1. Granuloma actinomicóide em linfonodos de bovinos. Percentagem de freqüência de botriomicose, actinobacilose e actinomicose em 254 linfonodos provenientes de matadouros frigoríficos do Rio Grande do Sul, após a coloração pela técnica de MacCallum-Goodpasture (Gram)

Linfonodos	Botriomicose		Actinobacilose		Actinomicose	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Retrofaríngeo	6	2,36	45	17,72	3	1,18
Sublingual	14	5,52	26	10,24	2	0,79
Parotídeo	27	10,63	5	1,97	—	—
Submandibular	—	—	2	0,79	—	—
Pré-escapular	66	25,98	7	2,76	—	—
Mediastínico	1	0,39	—	—	—	—
Peribrônquico	—	—	1	0,39	—	—
Femural	23	9,06	4	1,57	1	0,39
Inguinal	4	1,57	2	0,79	1	0,39
Ilíaco	7	2,76	1	0,39	—	—
Retromamário	6	2,36	—	—	—	—
Total	154	60,63	93	36,62	7	2,75

mente formando aglomerados no centro do grânulo. Em quatro linfonodos, as colônias eram constituídas por elementos filamentosos Gram-positivos que, pela impregnação pela prata, mostravam contorno nítido e centro claro. Esses agentes não possuíam álcool-ácido resistência e foram classificados como bactérias superiores.

Os grânulos de *Actinobacillus* exibiram clavas vermelhas, bem formadas e grandes em relação ao tamanho do grão, pela coloração de Gram. No interior ou na periferia dos mesmos apareciam cocobacilos vermelho-brilhantes, que eram também evidentes naqueles casos onde as clavas eram fracamente coradas.

Na actinomicose as clavas também apareceram vermelhas, contendo no seu interior organismos filamentosos e finos, corados em azul-escuro, pela técnica de MacCallum-Goodpasture. Na impregnação pela prata os filamentos negros mostravam ramificações e essa técnica permitia melhor observação da disposição em emaranhado (Fig. 3). Pela técnica de Fite-Faraco nenhum elemento mostrou álcool-ácido resistência.

A coloração pela hematoxilina e eosina possibilitou apenas o diagnóstico de granuloma actinomicóide (Fig. 4), mas permitiu um estudo detalhado da reação inflamatória. A lesão básica foi o chamado grânulo de enxofre no centro do granuloma. Esse grânulo tinha um centro levemente eosinofílico, circundado por estrutura formada por delicadas projeções fortemente eosinofílicas, em forma de clavias, dispostas radialmente, dando ao grânulo o aspecto de roseta. Os componentes da reação inflamatória que rodeava o grânulo eram distribuídos de forma e quantidade variáveis, mesmo entre os mesmos agentes. Em contato com o grânulo aparecia uma camada de neutrófilos, que variava de intensidade de grânulo para grânulo. Ao redor desses microabscessos apareciam macrófagos e células epitelióides, muitas vezes, em meio aos neutrófilos e, em muitos casos, células gigantes, algumas fagocitando pequenos grânulos ou parte deles. Linfócitos e plasmócitos apareciam mais externamente, distribuídos nas áreas onde havia mais fibroblastos. Uma cápsula fibrosa demarcava os granulomas e alguns grânulos mostravam focos de calcificação.

Pequenas diferenças puderam ser verificadas pela H-E quando as lesões dos diferentes agentes foram comparadas. Assim, na botriomicose, os grânulos eram grandes, numerosos, mas com clavias pequenas em relação ao tamanho do grânulo. Em alguns deles podiam ser vistos elementos cocóides corados basofilicamente e muitos grânulos estavam calcificados. Na actinobacilose, os grânulos eram pequenos e, algumas vezes, numerosos, formando inúmeros pequenos piogranulomas. As clavias eram bem formadas e grandes em relação ao grânulo. Na reação inflamatória, os neutrófilos eram mais proeminentes que os outros tipos celulares e a reação granulomatosa era mais discreta, com poucos fibroblastos e, algumas vezes, sem cápsula fibrosa. Na actinomicose os grânulos tinham tamanho e forma variáveis, mas em geral eram grandes e muitos deles tinha a forma de ferradura. Em alguns puderam ser vistos elementos filamentosos corados basofilicamente.

Dos 467 linfonodos com diagnósticos microscópico de granuloma tuberculóide, o diagnóstico macroscópico de tuberculose na inspeção foi confirmado em 89,77% dos casos, mas em 7,27% tratava-se de actinobacilose, em 1,69% de actinomicose e em 1,27% de linfadenite inespecífica ou neoplasia. Essas lesões predominavam nos linfonodos mediastínicos, retrofaríngeos, pré-escapulares e paratídeos.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O termo granuloma actinomicóide foi proposto para designar as inflamações crônicas causadas por microorganismos que, pela coloração de rotina (H-E), provocam reação inflamatória semelhante àquela causada pela bactéria *Actinomyces bovis*, pois a denominação de actinomicose necessariamente, não é indicativo da infecção por esse organismo (Vawter 1933). O termo botriomicose foi usado apenas para agrupar aqueles casos de granulomas

actinomicóides causados por bactérias cocóides, vistas na técnica de Gram. Esse termo, embora consagrado, denota a idéia errônea de infecção por fungo.

Dos linfonodos estudados a maior incidência de granuloma actinomicóide foi causada por bactérias cocóides Gram-positivas (botriomicose) e, em segundo lugar, por cocobacilos Gram-negativos (*Actinobacillus lignieresii*) e poucas vezes por bactérias filamentosas, finas, Gram-positivos (*Actinomyces bovis*) (Quadro 1).

Os linfonodos pré-escapulares foram os mais atingidos por bactérias cocóides (botriomicose) e nesses linfonodos como em outros, a infecção deve ser secundária tendo como ponto de partida uma lesão na pele ou outro órgão e o linfonodo lesado corresponderia a área de drenagem dessas lesões, mas esta constatação não foi possível confirmar por falta de informações do histórico clínico. Autores como Shanan & Davis (1942) citaram que lesões botriomicóticas são freqüentes em linfonodos, mas não deram a via de infecção.

Os linfonodos da região da cabeça e do pescoço, principalmente os retrofaríngeos e sublinguais foram os mais atingidos na actinobacilose. Essa localização é a mais freqüentemente relatada na infecção de linfonodos por *Actinobacillus lignieresii* (Davis & Torrance 1930, Vawter 1933, Sanders & Ristic 1956, Franco 1960, Till & Palmer 1960, Hebel et al. 1961, Barker & Van Dreumel 1985).

Nos poucos casos de actinomicose aqui observados lesões também foram encontradas em linfonodos da região da cabeça e do pescoço, sendo os retrofaríngeos e sublinguais os mais atingidos. Considerando-se que a cavidade bucal, principalmente a língua, é o local de infecção mais freqüente por *Actinobacillus lignieresii* e ossos da face por *Actinomyces bovis*, é de se esperar que os linfonodos que drenam essa região sejam os mais atingidos por essas bactérias, embora linfonodos distantes da cabeça também possam ser afetados. Till & Palmer (1960) citaram lesões de actinomicose em ossos da região cérvico-facial, associadas a lesões em linfonodos regionais.

A técnica de Gram e outras variações testadas foram eficientes para demonstrar os agentes Gram-positivos, mas somente com a técnica de MacCallum-Goodpasture foi possível a verificação dos cocobacilos Gram-negativos.

Pela técnica de MacCallum-Goodpasture verificou-se que, em todos os casos deste estudo os granulomas com bactérias cocóides foram causados por cocos Gram-positivos semelhantes à botriomicose como foi produzida, experimentalmente, por Kimmestiel & Easley (1940) com a inoculação de *Staphylococcus* sp. Foram relatados também casos espontâneos de botriomicose causados por *Staphylococcus aureus* (Drake et al. 1943, Winslow 1959, Waisman 1962, Greenblatt et al. 1964, Kubo et al. 1982). Bactérias do gênero *Streptococcus* são também capazes de produzir lesão semelhante (Greenblatt et al. 1964, Jones & Hunt 1983a, Yager & Scott 1985). Em nosso estudo o agente não foi cultivado para identificação por ter sido usado somente material fixado.

O aspecto microscópico de granuloma contendo grânulos pequenos, numerosos e com cocobacilos Gram-negativos permite o diagnóstico de actinobacilose e essa descrição corresponde àquelas de Gill & Singh (1977), Parihar et al. (1977), Kubo et al. (1981), Jones & Hunt (1983a) e Barker & Van Dreumel (1985).

Na actinomicose, a presença de organismos filamentosos, ramificados, Gram-positivos e não álcool-ácido resistentes no interior de grãos de enxofre são características que permitem o diagnóstico da doença e correspondem às descrições de McQuow (1955), Ainsworth & Austwick (1959), Winslow & Steen (1964), Jungerman & Schwartzman (1972), Gill & Singh (1977), Kubo et al. (1981), Jones & Hunt (1983b) e Jubb et al. (1985). A impregnação pela prata evidencia melhor a morfologia da bactéria no emaranhado da colônia e é recomendada por Verghese & Klokke (1966).

As características histológicas, pela técnica de hematoxilina e eosina, foram semelhantes nas lesões causadas por esses três agentes. A presença do grânulo de enxofre, associado à reação piogranulomatosa foram decisivos para o diagnóstico de granuloma actinomicóide. Winslow & Chamblin (1960), Waisman (1962), Greenblatt et al. (1964) e Kubo et al. (1982) citaram a ocorrência de piogranulomas clássicos ao redor de grânulos botriomicóticos. Peabody & Seabury (1957), Till & Palmer (1960), Hebler et al. (1961), Winslow & Steen (1964), Jungerman & Schwartzman (1972), Gill & Singh (1977), Kubo et al. (1981), Jones & Hunt (1983b) e Barker & Van Dreumel (1985) descreveram quadros histológicos semelhantes para a actinobacilose e actinomicose com pequenas diferenças em relação a maior ou menor quantidade dos tipos celulares encontrados na reação inflamatória.

Características dos grânulos de enxofre são citados, visando à diferenciação entre actinobacilose e actinomicose. A constatação do menor tamanho do grânulo de enxofre verificado nas lesões de actinobacilose deste estudo, quando comparado ao da actinomicose também foi verificada por Jones & Hunt (1983b), Barker & Van Dreumel (1985) e Jubb et al. (1985). A calcificação de grânulos foi mais freqüentemente encontrada nas lesões causadas por bactérias cocóides e não vista na actinomicose e está associada à cronicidade da lesão. Embora essas características auxiliem a tentativa de diagnóstico etiológico dos granulomas actinomicóides nas preparações coradas pela hematoxilina e eosina, elas são subjetivas e só podem ser usadas quando comparadas, enquanto que o emprego das técnicas de Gram evidencia bactérias cocóides e diferencia a actinobacilose da actinomicose nos casos onde não se tem culturas.

O erro de 10,23% no diagnóstico macroscópico de tuberculose verificado nos 467 linfonodos estudados se deve à semelhança macroscópica da lesão, essencialmente nas lesões pequenas e com calcificação. Deposição de sais de cálcio foram mais freqüentes nas lesões de botriomicose, justamente nos casos onde houve o maior índice de erro. Isto pode causar prejuízo econômico pela

condenação das carcaças e evidencia a importância do exame microscópico da lesão. Muitos autores evidenciaram a semelhança da lesão de tuberculose com as de actinobacilose e actinomicose salientando que focos de calcificação, embora típicos da tuberculose, podem ser encontrados em outras doenças (Shanan & Davis 1942, Franco 1960, Tammemagi et al. 1973), mas não incluíram a botriomicose entre elas.

Agradecimentos.— Os autores agradecem a Sérgio Ribeiro, Sérgio Perez da Silva, Vanderlan de Almeida e Wilson Menezes Gonçalves pela colaboração.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ainsworth G.C. & Austwick P.K.C. 1959. Fungal Diseases of Animals. Commonwealth Agricultural Bureaux, Bucks. 148p.
- Auger C. 1948. Human actinobacillary and staphylococcal actinophytosis. *Am. J. Clin. Pathol.* 18:645-652.
- Backer R.D. & Durham N.C. 1957. The diagnosis of fungus diseases by biopsy. *J. Chron. Dis.* 5(5):552-570.
- Barker J.K. & Van Dreumel A.A. 1985. Alimentary system, p. 1-237. In: Jubb K.V.F., Kennedy, P.C. & Palmer, N. (ed). *Pathology of Domestic Animals*. 3rd ed. Academic Press, Orlando.
- Behmer D.A., Tolosa E.M.C. & Freitas Neto A.G. 1976. Manual de Técnicas para Histopatologia Normal e Patológica. EDART, São Paulo. 241p.
- Bosworth T.J. 1923. The causal organisms of bovine actinomycosis. *J. Comp. Pathol. Therap.* 36(1):1-22.
- Davies G.O. & Torrance H.L. 1930. Observation regarding the etiology of actinomycosis in cattle and swine. *J. Comp. Pathol. Therap.* 43:216-233.
- Drake C.H., Suder M.T. & Canuteson R.I. 1943. A case of staphylococcal actinophytosis (botryomycosis) in man. *J. Am. Med. Assoc.* 123(6):339-341.
- Emmons C.W. 1935. Actinomyces and actinomycosis. *Puerto Rico J. Public. Health and Trop. Med.* 11:63-76.
- Franco D.A. 1960. Generalized actinobacillosis in a holstein cow (postmortem lesions). *Vet. Med. Small An. Clin.* 55:562.
- Gill B.S. & Singh 1977. Pulmonary actinobacillosis and actinomycosis in indian buffaloes. *Orissa Vet. J.* 11(3):104-109.
- Greenblatt M., Heredia R., Rubenstein L. & Alpert S. 1964. Bacterial pseudomycosis ("botryomycosis"). *Am. J. Clin. Pathol.* 41(2):188-193.
- Hebler H.F., Linton A.H. & Osborne A.D. 1961. Atypical actinobacillosis in a dairy herd. *Vet. Rec.* 73(21):517-521.
- Jones T.C. & Hunt R.D. 1983a. Diseases due to simple bacteria, chap. 11, p.574-637. In:— (ed.). *Veterinary Pathology*. 5th ed. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Jones T.C. & Hunt R.D. 1983b. Diseases caused by higher bacteria and fungi, chap. 12, p. 638-718. In:— (ed.) *Veterinary Pathology*. 5th ed. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Jungerman P.F. & Schwartzman R.M. 1972. Actinomycosis, chap. 11, p. 159-170. In:— (ed.) *Veterinary Medical Mycology*. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Jubb K.V.F. Kennedy P.C. & Palmer N. 1985. Bone and joints, chap. 1, p.1-138. In:— (ed.) *Pathology of Domestic Animals*. 3rd ed. Academic Press, Orlando.
- Kimmestiel M.D. & Easley C.A. 1940. Experimental botryomycosis. *Am. J. Pathol.* 16:95-103.
- Kubo M., Osada N. & Konno S. 1981. A histological and ultrastructural comparison of the sulfur granules of actinomycosis and actinobacillosis. *Natl Inst. Anim. Health Q. (jpn)* 21:26-31.
- Kubo M., Osada N & Konno S. 1982. Morphology of sulfur granules produced by *Staphylococcus aureus* and *Corynebacterium pyogenes* in cows. *Natl Inst. Anim. Health Q. (jpn)* 22:130-137.
- Lacaz C.S., Porto E. & Martins J.E.C. 1984. *Micologia Médica*. 7ª ed. Sarvier, São Paulo. 479p.

- Londero A.T., Ramos C.D. & Matte S.W. 1986. Micetomas actinomicóticos no Rio Grande do Sul – relato de quatro casos. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 81(1):73-77.
- McFadyean J. 1932. Actinomycosis and actinobacillosis. J. Comp. Pathol. Therap. 45:2-13.
- McQuown A.L. 1955. Actinomycosis and nocardiosis. Am. J. Clin. Pathol. 25:2-13.
- Parihard N.S., Charan K. & Bhargava A.C. 1977. Cutaneous actinobacillosis in a bull. Indian Vet. J. 54:431-432.
- Peabody J.W. & Seabury J.H. 1957. Actinomycosis and nocardiosis. J. Chron. Dis. 5(4):374-386.
- Sanders D.A. & Ristic M. 1956. Actinobacillosis of cattle. Am. J. Vet. Med. Assoc. 129:478-481.
- Shanan M.S. & Davis C.L. 1942. The diagnosis of actinomycosis and actinobacillosis. Am J. Vet. Res. 3(9):321-329.
- Tammemaggi L., Simmons G.C., Kelman R. & Hall T.K. 1973. A study tuberculosis-like lesions in cattle slaughtered in Queensland meatworks. Aust. Vet. J. 49:507-511.
- Till D.H. & Palmer F.P. 1960. A review of actinobacillosis with a study of the causal organisms. Vet. Rec. 72(27):527-533.
- Thompson S.W. 1966. Microscopic histochemical methods for the demonstration of infectious microorganisms and immunohistochemical technics, chap. 12, p. 874-1109. In:— (ed.) Selected Histochemical and Histopathological Methods. Charles C. Thomas, Springfield.
- Vawter L.R. 1933. A study of actinomycosis. Cornell Vet. 23:126-149.
- Verghese A. & Klokke A.H. 1966. Histologic diagnosis of species of fungus causing mycetoma. Indian J. Med. Res. 54(6):524-530.
- Waisman M. 1962. Staphylococcal actinophytosis (botryomycosis) granular bacteriosis of the skin. Arch. Dermatol. 86(4):525-529.
- Winslow D.J. 1959. Botryomycosis. Am. J. Pathol. 35(1):153-167.
- Winslow D.J. & Chamblin S.A. 1960. Disseminated Visceral botryomycosis – report of fatal case probably caused by *Pseudomonas aeruginosa*. Am. J. Pathol. 35(1):43-47.
- Winslow D.J. & Steen F.G. 1964. Considerations in the histologic diagnosis of mycetoma. Am J. Clin. Pathol 42(2):164-169.
- Yager J.A. & Scott D.W. 1985. The skin and appendages, v.1, chap. 5, p. 407-549. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (ed.) Pathology of Domestic Animals. 3rd ed. Academic Press, Orlando.

EFICIÊNCIA DA VIRGINIAMICINA NA RECUPERAÇÃO DE BEZERROS COM A DOENÇA PERIDENTÁRIA "CARA INCHADA"¹

FRANCES MARIE TIMS², IVERALDO DOS SANTOS DUTRA³, TAKASHI MATSUMOTO⁴ e JÜRGEN DÖBEREINER⁵

ABSTRACT.- Tims F.M., Dutra I.S., Matsumoto T. & Döbereiner J. 1992 [Efficiency of Virginiamycin for the recovery of calves from the periodontal disease "Cara inchada".] Eficiência da Virginiamicina na recuperação de bezerros com a doença peridentária "cara inchada". *Pesquisa Veterinária Brasileira* 12(3/4):77-80. Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970, Brazil.

"Cara inchada" of young bovines (CI) is an important economic and health problem for cattle raising in certain areas of newly cultivated pastures in Brazil. Affected calves develop a purulent periodontitis that leads to loss of premolar teeth, mainly of the upper jaw, to emaciation and frequently to death. To study the efficiency of Virginiamycin for the recovery of calves kept on a farm under conditions which led to an prevalence of 61.5% of CI, an experiment was performed. Seventy seven calves with progressive periodontal lesions received orally during 8 consecutive weeks 0.032g of Virginiamycin/animal 3 times a week. Two control groups of diseased non-treated calves were used: the first consisting of 10 calves maintained within the treated group of CI animals and a second group of 95 calves affected by the disease. After the 8 week period the treated calves showed a very good recovery, but there was aggravation of symptoms in the 2 groups of nontreated animals, such as bad odor from the buccal cavity, weight loss, diarrhea and shedding of premolar teeth. It was concluded that Virginiamycin was efficient for the treatment of calves with CI.

INDEX TERMS: Periodontal disease, periodontitis, "Cara inchada", cattle, calves, treatment, Virginiamycin.

SINOPSE.- A "cara inchada" dos bovinos (CI) constitui-se num importante problema econômico-sanitário da pecuária em determinadas áreas de pastagens recém-formadas no Brasil. Bezerros acometidos desenvolvem uma periodontite purulenta progressiva, levando à perda de dentes pré-molares maxilares. Quando mantidos em propriedades com alta incidência da doença, um considerável número dos animais afetados vem a morrer por emaciação. O presente experimento teve por finalidade verificar a eficácia da Virginiamicina na recuperação de bezerros com CI mantidos sob as condições que levaram a 61,5% de incidência da doença. Assim, 77 bezerros com lesões peridentárias progressivas receberam durante 8 semanas consecutivas, por via oral, 0,032g de Virginiamicina por dose, 3 vezes por semana. Como controle foram utilizados dois grupos: um constituído por 10 bezerros que permaneceram no mesmo lote de tratamento, porém sem receber a Virginiamicina, e outro, por 95 bezerros, todos mantidos nas

mesmas condições sob as quais ocorreu a doença na propriedade. Ao final do período de administração do antibiótico, o lote tratado apresentou melhora acentuada, ao passo que os animais dos outros dois lotes tiveram agravamento do quadro, com perda de dentes, mau odor da cavidade bucal, diarreia e emagrecimento progressivo. Concluiu-se que a Virginiamicina foi eficiente na recuperação de bezerros acometidos pela CI, quando estes parâmetros foram considerados.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Doença peridentária, periodontite, "cara inchada", bovinos, bezerros, tratamento, Virginiamicina.

INTRODUÇÃO

A periodontite dos bezerros "cara inchada" (CI) é uma doença que acomete animais em fase de dentição mantidos em determinadas áreas de pastagens recém-formadas do Sudeste, Centro-Oeste e Norte do Brasil. Ela se caracteriza por um processo inflamatório purulento ulcerativo, e a medida que a lesão progride, as raízes dos dentes pré-molares e molares ficam expostas, podendo haver afrouxamento e perda dos mesmos, resultando nos animais jovens em periostite crônica ossificante e abaulamento facial, uni ou bilateral, aliado a sintomas como odor fétido da boca, pêlos arrepiados, diarreia e emagrecimento progressivo. Prevalência da CI superior a 50% dos bovinos jovens foi encontrada em diferentes regiões

¹ Aceito para publicação em 29 de maio de 1992.

Este trabalho é parte da tese de mestrado do primeiro autor, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

² Pós-Graduação em Patologia Veterinária, UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970.

³ Depto Med. Vet. Preventiva, FCAV, Unesp-Campus de Jaboticabal, Rodovia Carlos Tonanni Km 5, Jaboticabal, SP 14870-000; bolsista do CNPq (305967/85-1).

⁴ Cooperativa de Laticínios de São Carlos, São Carlos, SP.

⁵ Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970; bolsista do CNPq (305294/88-1).

provocando sérias perdas econômicas devido à debilidade e morte de grande número de animais. (Döbereiner et al. 1974, 1975, 1976).

O envolvimento de bactérias Gram negativas na etiopatogenia da CI foi estudada por Blobel et al. (1984), ao isolarem de lesões peridentárias em 23 bezerros necropsiados, as espécies *Actinomyces*, *Bacteroides* e *Fusobacterium*, sendo mais recentemente observado que os microrganismos do gênero anaeróbio *Bacteroides* pigmentados de negro constituem 80% da microbiota subgingival de bezerros com a doença (Dutra et al. 1988).

Tentativas sem sucesso foram feitas de se tratar bovinos afetados pela CI através de suplementação mineral (Souza 1984) e com antibióticos por via parenteral (Rosa et al. 1985). A administração profilática por via oral de Espiramicina adicionada a suplementos minerais revelou-se eficaz (Döbereiner et al. 1990).

Com o objetivo de buscar outras alternativas de controle da CI como forma de manter bezerros em áreas de alta incidência da doença, testamos a eficiência da Virginiamicina administrada individualmente por via oral. Este antibiótico se caracteriza por apresentar reduzida absorção gastro-intestinal, agindo especificamente sobre a microflora do rúmen, além de causar baixos efeitos tóxicos e residuais.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de experimentação

O experimento foi realizado na Fazenda S.F., município de São Carlos, Estado de São Paulo, durante 8 semanas, entre os dias 7 de setembro e 31 de outubro de 1990.

A fazenda foi formada em 1979 com pastagens de *Brachiaria decumbens*, e logo após a introdução dos bovinos surgiram sinais clínicos de CI e alto coeficiente de mortalidade em bezerros. Com o decorrer dos anos houve diminuição dos casos e finalmente o problema desapareceu alguns anos mais tarde.

Em junho de 1990, iniciou-se na fazenda suplementação alimentar com cana-de-açúcar que havia sido cultivada em área da propriedade preparada no ano anterior, e duas semanas após surgiram sintomas de CI, ocorrendo, até 25.8.90, a morte de 195 dos 882 bezerros desmamados no período, correspondente a 22,1% de perdas (Dutra et al. 1992).

Exame clínico do rebanho

A fim de se estabelecer o percentual de animais afetados pelas lesões peridentárias da CI, foram feitos exames clínicos, geral e da boca, de 398 bezerros, machos e fêmeas, de 9 a 18 meses de idade.

No exame geral foi dada especial atenção à presença de sinais de diarreia, ao estado da pelagem e à plenitude ruminal dos animais. No exame da cavidade bucal, com auxílio de um abre-bocas e uma lanterna de mão, foi avaliada a higidez da gengiva maxilar, lado e posição de retração gengival, ausência de dentes premolares e/ou molares, e presença de odor fétido bucal em cada animal.

Animais de experimentação

Os bezerros com lesões peridentárias (CI) do grupo tratamento foram escolhidos dentre os 398 animais previamente exa-

minados; entretanto aqueles em pior estado geral foram incluídos neste grupo na tentativa de mantê-los vivos, evitando desta forma maiores perdas ao proprietário. Para o lote controle foram escolhidos animais nas mesmas condições clínicas.

Lote tratamento. Constituiu-se de 77 bezerros com diferentes graus de lesões peridentárias progressivas e abaulamento facial, com estado de nutrição variando de mau a péssimo. Estes animais foram mantidos nas mesmas condições sob as quais ocorria novamente a CI na propriedade, continuando a receber a mesma alimentação, isto é, cana-de-açúcar picada e suplemento mineral rotineiro da fazenda durante as 8 semanas de administração do antibiótico.

Lotes controle. Dois lotes controle foram utilizados. O primeiro (Controle A) foi constituído de 10 bezerros com lesões peridentárias da CI mantidos no mesmo piquete junto com os animais-CI em tratamento, porém sem receber a Virginiamicina. O segundo lote (Controle B) constituiu-se de 95 animais-CI que foram mantidos em piquete contíguo, sob as mesmas condições que levaram à CI, isto é, recebendo também durante 8 semanas cana-de-açúcar e suplemento mineral rotineiro da fazenda.

Administração da Virginiamicina

Foi usado o aditivo STAFAC 500 (SmithKline-Beecham) contendo 50% de Virginiamicina, misturado à fubá-de-milho na proporção de 8g de aditivo (4g do antibiótico) em 1000g de fubá. Cada bezerro recebeu 8g da mistura, ou seja, 64mg de STAFAC 500 (correspondente a 32mg de Virginiamicina) por dose, 3 vezes por semana durante 8 semanas consecutivas. Os animais receberam a mistura diretamente na boca como forma de assegurar a ingestão correta da dose do aditivo.

Avaliação dos resultados

O critério para a avaliação clínica dos grupos tratamento e controle baseou-se em observações semanais do estado geral dos animais e registro final do exame clínico da cavidade bucal. Foram tidos como sintomas, pelos ásperos, diarreia ("cauda suja"), plenitude ruminal reduzida, emagrecimento progressivo, odor fétido da boca, ausência de dentes premolares e molares, nível e sítio de retração gengival.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao início do experimento foi constatada a presença de retração gengival de diferentes intensidades, uni ou bilateral, em 63% dos bezerros machos e em 60% das fêmeas examinadas, sendo mais frequentemente observada ao nível da papila interdentária lingual dos dentes Pd₃-Pd₄ maxilares. A prevalência média das lesões peridentárias da CI nesses animais foi de 61,5%. O rebanho estava com severo grau de desnutrição e a mortalidade era de 22,1% registrada no início do experimento.

Dos 12 bezerros do lote tratamento que inicialmente apresentavam abaulamento facial, três morreram na primeira semana do experimento em decorrência do péssimo estado geral (Quadro 1). Após a segunda semana do início da administração da Virginiamicina, já não se observou a presença da "cauda suja", em virtude do desaparecimento da diarreia dos animais. Após 6 semanas, os bezerros não apresentavam mais odor fétido bucal e aparentemente as lesões peridentárias estavam estacionadas.

Quadro 1. Recuperação de bezerros com "cara inchada" após administração oral de Virginiamicina durante 8 semanas

	Lote tratamento		Lote controle A		Lote controle B	
	7 set. 90	31 out. 90	7 set. 90	31 out. 90	7 set. 90	31 out. 90
Número de bezerros ^a	77	74	10	7	95	77
Abaulamento facial	12	7	0	0	15	22
Odor fétido bucal	77	0	10	7	95	77
"Cauda suja" (diarréia)	47	0	8	6	41	43

^a Os números de animais relacionados em 31.10.90 nos três lotes correspondem ao n^o inicial subtraído o n^o de mortos.

No final das 8 semanas de administração do aditivo os animais do lote tratamento apresentavam visível melhora do estado de nutrição, iniciando-se inclusive a mudança de pêlo.

Três bezerros do lote controle A morreram em face a debilidade na segunda semana do experimento, e 6 dos 7 animais restantes neste grupo apresentaram diarréia. Todos estavam com odor fétido bucal e o estado geral destes animais agravou-se no decorrer do tempo.

Dos 95 bezerros do lote controle B que ficaram em pasto contíguo ao do lote tratamento, 18 morreram durante o período de experimento. Houve uma piora do estado geral do lote, com persistência da diarréia, do odor fétido bucal e abaulamento facial. Os resultados estão contidos no Quadro 1.

De acordo com as observações realizadas na Fazenda S.F., o surto da CI, com prevalência média de 61,6%, esteve relacionado com a reforma da área utilizada na plantação de cana-de-açúcar (Dutra et al. 1993). A cana, ao ser administrada aos bezerros, parece ter desencadeado o surto corroborando mais uma vez a origem alimentar da doença (Döbereiner et al. 1974). Estudos sobre a transferência de bovinos com CI para região indene, demonstraram que há recuperação espontânea das lesões peridentárias e desaparecimento do abaulamento facial em 4 a 6 meses, quando os animais pastejam em área natural ou onde o solo não foi cultivado recentemente. Há então reação reparativa do tecido conjuntivo peri e paradentário, com epiteliação das bolsas peridentárias e desaparecimento do odor fétido bucal característico. (Döbereiner et al. 1975, Döbereiner 1990).

Diante da impossibilidade de transferência dos bezerros da Fazenda S.F. para área indene e da necessidade, na época da seca, de utilização da cana-de-açúcar, suspeita de conter um fator desencadeante da doença, como alimento principal do rebanho, foi realizado o experimento para o qual foi escolhido o aditivo Virginiamicina.

A eficiência desse antibiótico na recuperação dos bezerros com CI ficou evidente através das observações de parâmetros como "cauda suja" sugerindo diarréia, odor fétido da boca e estado nutricional dos animais. O desconhecimento de todos os fatores envolvidos na etiopatogenia da doença dificulta estabelecer critérios menos subjetivos. No entanto, quando se consideram aspectos epizooticos da CI, estes são indicadores da presença e evolução da doença. Desta maneira, após o período de 8 sema-

nas de administração da Virginiamicina os animais apresentavam melhora no seu estado geral, desaparecimento da diarréia e do odor fétido bucal, o que não foi observado nos dois lotes de controle. Estes resultados são semelhantes aos obtidos por Döbereiner et al. (1990) que administraram Espiramicina sob forma de aditivo adicionado ao suplemento mineral, verificando-se sua eficácia na profilaxia da CI. Estes resultados experimentais abrem novos horizontes não somente em relação ao controle da doença, mas em relação à participação primordial de bactérias na etiopatogenia do processo.

A Virginiamicina tem ação eminentemente sobre bactérias Gram positivas. Das lesões peridentárias da CI foram isoladas, em grande número, bactérias Gram negativas (Blobel et al. 1984). Com base nestes dados, o mecanismo de ação do antibiótico na recuperação dos bezerros com CI pode ter sido ou no controle da microbiota Gram positiva, também isolada das lesões (Blobel et al. 1984, Botteon 1991), impedindo assim a aderência de bactérias Gram negativas, ou possivelmente na modificação da microbiota ruminal (Van Nevel & Demeyer 1988).

Nas condições experimentais em que foi desenvolvido o presente trabalho, a Virginiamicina contribuiu, portanto, satisfatoriamente na recuperação de bezerros acometidos pela CI, mantidos em áreas e sob condições propícias à ocorrência da doença.

Agradecimentos.— Ao proprietário da fazenda onde foi realizada a experimentação, Sr. Rafael Jaffet, pela colaboração dada para o desenvolvimento deste trabalho. À firma SmithKline-Beecham, Rio de Janeiro, pela doação da Virginiamicina sob forma do aditivo STAFAC (Escalin) 500.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blobel H., Döbereiner J., Lima F.G.F. & Rosa I.V. 1984. Bacterial isolations from "Cara inchada" — lesions of cattle. *Pesq. Vet. Bras.* 4(3):73-77.
- Botteon R.C.C.M. 1991. Isolamento, caracterização e patogenicidade de bactérias associadas às lesões peridentárias da "cara inchada" dos bovinos. Tese de Mestrado, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro. 100p.
- Döbereiner J., Inada T. & Tokarnia C.H. 1974. "Cara inchada", doença peridentária em bovinos. *Pesq. Agropec. Bras.*, Sér. Vet., 9:63-85.
- Döbereiner J., Chaves J.A., Rosa I.V. & Houser H. 1975. Efeito da transferência de bovinos com "cara inchada" (doença peridentária) para pastos de região indene. *Pesq. Agropec. Bras.*, Sér. Vet., 10:99-103.
- Döbereiner J., Rosa I.V. & Lazzari A.A. 1976. "Cara inchada" (doença peridentária) em bezerros mantidos em pastos de *Panicum maximum*. *Pesq. Agropec. Bras.*, Sér. Vet., 11:43-47.

- Döbereiner J., Rosa I.V., Dutra I.S., Pereira A.R. & Blobel H. 1990. Efeito de espiramicina na profilaxia da "cara inchada" dos bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 10(1/2):27-29.
- Döbereiner J. 1990. Towards the etiology of "Cara inchada", a periodontal disease of young cattle in Brazil. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 97:482-490.
- Dutra I.S., Botteon R.C.C.M., Döbereiner J. & Blobel H. 1988. Caracterização de amostras de *Bacteroides* pigmentados de negro, isolados da "cara inchada" dos bovinos. An. XXI Congr. Bras. Med. Vet., Salvador, Bahia, 2-7 out., Resumo 8.
- Dutra I.S., Matsumoto T. & Döbereiner J. 1993. Surtos de doença peridontária ("cara inchada") em bezerros associados ao manejo do solo. *Pesq. Vet. Bras.* 13(1/2), no prelo.
- Van Nevel C.J. & Demeyer D.I. 1988. Manipulation of rumen fermentation, p. 387-444. In: Hobson P.N. (ed.) *The Rumen Microbial Ecosystem*. Elsevier Applied Science, London.

ATIVIDADE ABORTIVA DE *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae) EM RATAS¹

H.R.N. MARONA², A. LANGELOH³ e E.P. SCHENKEL²

ABSTRACT.- Marona H.R.N., Langeloh A. & Schenkel E.P. 1992. [Abortion caused by *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae) in rats.] Atividade abortiva de *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae) em ratas. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 12(3/4):81-83. CPG-Farmácia, Fac. Farmácia, UFRGS, Av. Ipiranga 2752, Porto Alegre, RS 90610-000, Brazil.

Ateleia glazioviana Baillon (Leg. Papilionoideae), popularly known as "timbó de Palmeira", is a tree found throughout Rio Grande do Sul, Brazil. It is reputed to induce abortion in cattle, to be toxic to fish and repellent to household insects. Evaluation of the effects of the hydroethanolic leaf extracts administered to pregnant female rats showed that the dichloromethane and amino acids extracts in doses of 100 mg.kg⁻¹ caused a significant decrease in the number of progeny and a reduction in weight gains of pregnant females when compared with undosed controls. It is concluded that the dichloromethane extract, which contains apolar substances (e.g. rutin and afrormosin) and the amino acids extract (proteinogenic and non proteinogenic amino acids) are responsible for the abortions or reabsorptions of foetuses in female rats.

INDEX TERMS: Abortion, *Ateleia glazioviana*, Leguminosae, poisonous plants, "timbó".

SINOPSE.- *Ateleia glazioviana* Baillon, árvore pertencente à família Leguminosae Papilionoideae de ocorrência no Estado do Rio Grande do Sul, é conhecida popularmente como timbó de Palmeira, sendo considerada abortiva e tóxica para o gado, ictiotóxica e repelente de insetos. Neste estudo foram constituídos grupos experimentais com ratas grávidas que receberam diariamente, via intraperitoneal, frações do extrato hidroetanólico de folhas de *A. glazioviana* na dose de 100 mg.kg⁻¹. Foi observada redução significativa no número de filhotes nos grupos que receberam as frações diclorometano e aminoácidos. Redução significativa do ganho de peso das fêmeas gestantes foi verificada para os grupos tratados com as frações diclorometano, acetato de etila, n-butanol e aminoácidos. Conclui-se que as frações diclorometano, que contêm substâncias menos polares, tais como rutina e afrormosina, e aminoácidos, que contêm aminoácidos protéicos e não protéicos, são capazes de produzir abortos ou reabsorções e reduzir o desenvolvimento ponderal de ratas gestantes.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Aborto, *Ateleia glazioviana*, Leguminosae, planta tóxica, "timbó".

INTRODUÇÃO

Populares e técnicos relatam a ocorrência de abortos em bovinos que ingerem as folhas de *Ateleia glazioviana* Baill., uma árvore conhecida popularmente como "timbó

de Palmeira", devido a sua região de dispersão ser o município de Palmeira das Missões, Rio Grande do Sul (Burkart 1952, Röhe & Dutra 1969, Soares 1974). Em trabalho anterior, Langeloh et al. (1991) mostraram a ação abortiva do extrato aquoso bruto de *A. glazioviana*.

Ortega (1985) isolou de folhas de *Ateleia glazioviana* os seguintes flavonóides: rutina, iso-ramnnetina, quercetina, canferol e miricetina; e as isoflavonas afrormosina e 5-metoxiafrormosina. Também este autor caracterizou a presença dos aminoácidos protéicos alanina, arginina, asparagina, leucina, lisina, serina, treonina e valina, e ainda a presença de três aminoácidos não protéicos os quais não foram identificados. Atividade ictiotóxica também foi detectada com o extrato hidroalcoólico de folhas e raízes por Ortega (1985). Langeloh et al. (1991) mostraram que o extrato aquoso bruto de *A. glazioviana* afeta seriamente a reprodução de ratas. O presente trabalho foi realizado com o objetivo de correlacionar a atividade abortiva em ratas com os principais constituintes dos extratos de folhas.

MATERIAL E MÉTODOS

As folhas de *Ateleia glazioviana* Baillon (Leg. Papilionoideae) foram colhidas no município de Palmeira das Missões, RS. Após seco e moído, o material foi extraído através de decocção para a obtenção do extrato hidroetanólico, que foi concentrado a 500ml. Foram reservados 50 ml deste extrato bruto, codificado como EA₁; o restante foi fracionado com solventes de polaridade crescente: diclorometano, acetato de etila e n-butanol, para o fornecimento das frações ED, EE e EB, respectivamente. O extrato aquoso final, denominado EA₂, foi submetido à coluna de troca

¹ Aceito para publicação em 8 de outubro de 1992.

Os resultados integraram Dissertação de Mestrado do primeiro autor, Curso de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

² Depto Fármacos e Medicamentos, Fac. Ciênc. Farmacêuticas, Unesp, Rodov. Araraquara-Jaú, Km 1, Araraquara, SP 14801-902.

³ Depto Farmacologia, Inst. Biociências, UFRGS, Rua Prof. Sarmento Leite 500/202, Porto Alegre, RS 90046-900; bolsista do CNPq (306209/89-6).

iônica fortemente catiônica, para a obtenção da fração rica em aminoácidos, codificada como-AA.

As frações EA₁, EE, EB, EA₂ e AA foram diluídas em água destilada até uma concentração final de 100 mg.ml⁻¹ e a fração ED, em água destilada + tween a 1% na concentração de 25 mg.ml⁻¹. Foram, portanto, constituídos dois grupos controles os quais receberam os respectivos veículos como tratamento, seguindo a mesma posologia dos grupos experimentais.

Foram utilizadas ratas albinas, virgens, pesando entre 160 e 220g examinadas diariamente para detecção de cópula (pela presença de espermatozoides no esfregaço vaginal). As fêmeas prenhas foram agrupadas aleatoriamente e tratadas diariamente conforme o grupo experimental a que foram designadas por sorteio, por via intraperitoneal, na dose de 100 mg.kg⁻¹. Todos os grupos foram tratados desde o 1º até o 21º dia de gestação. No 7º dia de tratamento, as fêmeas foram submetidas à laparotomia retro-umbilical mediana sob anestesia com vapores de éter etílico, para a contagem do número de implantes. No 22º dia de gestação, as fêmeas foram sacrificadas por inalação excessiva de vapores de éter etílico para a contagem e pesagem dos filhotes.

Foram avaliados: peso inicial e final das gestantes; ganho de peso durante a gestação; nº implantes; nº filhotes; taxas de gesta-

ção, parto e natalidade conforme descrito anteriormente (Langeloh et al. 1992). As diferenças entre os grupos foram testadas através do teste de Student ou do teste exato de Fischer conforme apropriado indicando-se o nível de significância alcançado.

RESULTADOS

No Quadro 1 estão apresentados os principais resultados obtidos com os grupos tratados com as diferentes frações do extrato de folhas de *Ateleia glazioviana*.

Verificou-se que, tanto nos grupos controles como nos grupos tratados com as frações, as fêmeas que apresentaram espermatozoides no esfregaço vaginal resultaram prenhas, conferindo uma taxa de prenhez de 100% em todos os grupos. Não foi observada redução significativa no número de implantes dos grupos tratados. Foi observada redução no número de filhotes nos grupos tratados com as frações diclorometano (ED) e aminoácidos (AA) (3,2 e 2,6 filhotes/fêmea respectivamente), quando comparados a 11,5 e 9,9 filhotes/fêmea dos respectivos grupos controles, reduzindo significativamente as taxas de

Quadro 1. Parâmetros reprodutivos obtidos de ratas tratadas com os extratos de folhas de *A. glazioviana* indicados na coluna tratamento, na dose de 100 mg.kg⁻¹, IP, desde o 1º até o último dia de gestação e respectivos grupos controles

Tratamento NR ^a	N	Implantes		Filhotes		Taxas				
		N	Média ± epm	N	Média ± epm	R	Prenhez	Parto	Natalidade	Teratogenia
Água	4	50	12,5 ± 0,4	46	11,5 ± 1,0	04	100	100	92	0
Tween	8	86	10,8 ± 0,1	79	9,9 ± 0,1	07	100	100	92	0
DE-EA1	9	99	11,0 ± 0,4	96	10,7 ± 0,4	03	100	100	88	0
DE-ED	9	85	9,4 ± 0,8	29	3,2** ± 1,0	56 #	100	77,8	34 ###	13,8
DE-EE	7	72	10,3 ± 0,7	66	9,4 ± 0,4	06	100	100	92	0
DE-EB	7	70	10,0 ± 0,6	67	9,6 ± 0,6	03	100	87,5	81	0
DE-EA2	7	58	9,7 ± 1,0	55	9,2 ± 0,9	03	100	100	95	0
DE-AA	5	54	10,8 ± 1,0	14	2,6** ± 2,6	40 #	100	20	26 #	0

^aNR = número de ratas copuladas (detectado pela presença de espermatozoides no esfregaço vaginal) e que resultaram prenhas, detectado por laparotomia exploratória no sétimo dia de gestação.

N = número total de observações: implantes detectados no sétimo dia de gestação e filhotes detectados no 22º dia de gestação.

epm = erro padrão da média.

** p < 0,01 comparado com o respectivo grupo controle pelo teste t-de Student.

R = número de reabsorções ou abortos (detectado pela diferença entre o número de implantes e o número de filhotes existentes no final do período de gestação).

p < 0,05; ### p < 0,01 comparado com o respectivo grupo controle pelo teste exato de Fischer.

Quadro 2. Desenvolvimento ponderal de ratas tratadas com as frações do extrato de folhas de *A. glazioviana* na dose de 100 mg/kg, IP, desde o 1º até o último dia de gestação e respectivos grupos controle

Trat ^o	N	Peso dos animais (g)		Aumento de peso		Peso médio dos filhotes (g)
		1º dia	22º dia	(g)	(%)	
Água	4	200,0 ± 4,4	280,3 ± 6,7	80,3 ± 5,2	40,2 ± 2,8	3,9 ± 0,1
Tween	8	214,3 ± 0,3	286,0 ± 0,4	72,0 ± 0,4	33,7 ± 0,3	4,6 ± 0,1
DE-EA1	9	175,8 ± 3,0	247,0 ± 5,7	71,2 ± 3,3	40,4 ± 1,5	2,7 ± 0,0
DE-ED	9	210,4 ± 5,5	243,9 ± 5,6	33,4 ± 1,9	16,2** ± 2,7	1,7 ± 0,3
DE-EE	7	211,4 ± 5,1	264,7 ± 10,7	53,3 ± 6,1	24,9* ± 2,5	3,6 ± 0,2
DE-EB	7	174,6 ± 7,0	230,3 ± 8,2	55,7 ± 2,5	32,1** ± 1,5	2,0 ± 0,1
DE-EA2	6	211,2 ± 8,5	270,4 ± 13,2	67,2 ± 5,3	31,6 ± 1,7	4,4 ± 0,3
DE-AA	5	205,5 ± 5,7	233,8 ± 18,5	28,3 ± 17,2	14,0* ± 8,8	-

* p < 0,05 comparado com o grupo controle.

** p < 0,01 comparado com o grupo controle.

atualidade ($p < 0,01$ e $< 0,05$ respectivamente). No grupo tratado com a fração diclorometano duas das nove ratas abortaram ou reabsorveram os filhotes, resultando na taxa de parto de 77,8%. A taxa de natalidade, que expressa o número de filhotes nascidos vivos sobre o total de filhotes nascidos, foi significativamente reduzido nos grupos ED e AA (respectivamente $p < 0,01$ e $< 0,05$). No grupo tratado com extrato ED verificaram-se filhotes com tamanho muito pequeno, cor escura, enrugados e mortos. No grupo tratado com a fração aminoácidos apenas uma das cinco fêmeas apresentou filhotes no final da gestação (9 vivos e 5 mortos), conferindo uma taxa de parto de 20%. As demais abortaram ou reabsorveram os embriões.

O desenvolvimento ponderal das fêmeas gestantes é apresentado no Quadro 2. Verificou-se que as ratas tratadas com as frações diclorometano, acetato de etila, n-butanol e aminoácidos tiveram o ganho de peso significativamente inferior ao apresentado pelo respectivo grupo controle. O ganho percentual de peso corporal das fêmeas dos grupos EA₁, EA₂, EE, EB e AA em relação ao 1º dia de gestação foi de 40,4; 31,6; 24,9; 32,1 e 14%, respectivamente, enquanto que no grupo controle foi de 40,2%. A única fêmea do grupo tratado com a fração rica em aminoácidos AA que chegou ao final da gestação aumentou 50,8% do peso inicial. O grupo tratado com a fração ED aumentou 16,2%, e o controle 33,7%.

O peso médio dos filhotes no 22º dia de gestação ao nascer foi significativamente menor nos grupos EA₁, ED e EB conforme pode ser observado no Quadro 2.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A ação infertilizante (ou abortiva) do extrato aquoso bruto das folhas de *A. glazioviana* em ratas fora demonstrada anteriormente sem, contudo, correlacionar o efeito com os principais constituintes do extrato (Langeloh et al. 1991). A atividade abortiva das folhas deste vegetal parece estar relacionada a duas classes de substâncias: compostos menos polares contidos na fração diclorometano e aos aminoácidos contidos na fração AA. Dos componentes identificados por Ortega (1985) estão presentes em maior concentração na fração ED, a rutina e a afrorosina. Da fração AA é pouco provável esperar que os aminoácidos protéicos (alanina, arginina, asparagina, leucina, lisina, serina, treonina e valina) presentes na dieta normal dos mamíferos, mesmo de ruminantes, sejam os responsáveis pela diminuição da fertilidade na dose empregada: 100mg/kg. Portanto, a suspeita recai sobre os aminoácidos não protéicos contidos em *Ateleia glazioviana*, mas tal fato deve ser confirmado experimentalmente. Marona (1992) isolou e determinou a estrutura de dois dos três aminoácidos não proteínogênicos presentes no extrato verificando tratar-se de delta-acetilornitina e ácido 1-aminociclobutano-1, 3-dicarboxílico. Não há na literatura consultada referência à ação abortiva destas substâncias.

A determinação da DL50 do extrato bruto de *A. glazioviana* em experimentos de toxicidade aguda, em uma administração via endovenosa em ratos adultos não gestantes foi de 3715 mg.kg⁻¹, indicando que as substâncias presentes são de baixa toxicidade (Marona 1992). No entanto, administrado por via oral, repetidas vezes, Langeloh et al. (1991) verificaram que ratas gestantes perdem peso acentuadamente. Cubilla-Gutierrez & Langeloh (1991) relatam que ratas tratadas com extrato hidroalcolico consomem menor quantidade de ração. Estes dados são semelhantes aos obtidos no presente trabalho: acompanhando o desenvolvimento ponderal das ratas gestantes foi verificado que as frações diclorometano e aminoácidos reduziram significativamente o desenvolvimento ponderal. Este sinal pode ser tomado como um indicativo de toxicidade geral. Entretanto não se observaram em nenhum grupo tratado outros sinais de toxicidade geral ou mesmo comportamental além dos efeitos abortivos e de perda de peso relatados. Os resultados obtidos no presente trabalho sugerem que a ação abortiva está relacionada com a presença dos aminoácidos não proteínogênicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Burkart A. 1952. Las Leguminosas Argentinas. 2ª ed. Acme, Buenos Aires, p. 206-207.
- Corbett, C.E. 1940. *Plantas icotóxicas - Farmacologia da rotenona*. USP, São Paulo.
- Cubilla-Gutierrez F.H. & Langeloh A. 1991. Consumo de ração por ratas gestantes e lactantes submetidas ou não ao tratamento com extratos e aminoácidos de *Ateleia glazioviana* Baill. e benzoato de estradiol. Salão de Iniciação Científica, UFRGS, Porto Alegre.
- Langeloh A., Maidana-Leguizamon F. & Dalsenter P.R. 1992. Potencial abortivo e infertilizante de plantas brasileiras contaminantes ocasionais de pastagens de bovinos e outros herbívoros de interesse econômico. *Pesq. Vet. Bras.* 12(1/2):11-18.
- Marona H.R.N. 1992. Investigaçao química e toxicológica de *Ateleia glazioviana* Baillon (Leguminosae-Papilionoideae). Diss. Mestrado, Fac. Farmácia, UFRGS, Porto Alegre.
- Ortega G.G. 1985. Sobre a química e a toxicidade do "timbó" - *Ateleia glazioviana* Baill. (Leguminosae-Papilionoideae). Diss. Mestrado, Fac. Farmácia, UFRGS, Porto Alegre.
- Ortega G.G., Schenkel E.P., Athayde M.L. & Knorst M.T. 1986. Rutina em folhas de *Ateleia glazioviana* Baillon. *Revta. Bras. Farmacognosia* 1(2):136-142.
- Ortega G.G. & Schenkel E.P. 1986. Isoflavonas de *Ateleia glazioviana* Baillon. *Cad. Farmácia* 2(2):153-161.
- Ortega G.G. & Schenkel E.P. 1987. Ichthyotoxic activities of *Ateleia glazioviana* and *Thinouia coriacea* Brit. *J. Ethnopharmacology* 20: 81-84.
- Ortega G.G., Schenkel, E.P. & Miotto, S. 1989. Las isoflavonas C-5-metoxilado y su significado quimiotaxonômico en Papilionoideae. *Revta Latinoam. Química* 20(2):53-56.
- Röhe R. & Dutra J. 1969. Plantas tóxicas. Fac. Veterinária, UFRGS, Porto Alegre.
- Schultz A.R. 1975. Os nomes científicos e populares das plantas do Rio Grande do Sul. PUC/EMA, Porto Alegre.
- Silva, R.F. 1934. Os timbós. *Bolm Agric. Zootec. e Vet.* 7(4):213-223.
- Soares, M.P. 1974. Santo Antônio da Palmeira. Bels, Porto Alegre, p. 35-38.