

ISSN 0100-736X

Volume 6 Número 3
Jul/Set 1986

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Brazilian Journal of Veterinary Research



Revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

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

Editorial Policy

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

Corpo Editorial (Editorial Board)

Editor: Jürgen Döbereiner. **Editores Assistentes:** Oswaldo Duarte Gonçalves, Cheryl Ann Rowe, Isaias A. de Oliveira. **Editores Adjuntos:** Severo Sales de Barros, Osmane Hipólito, Jerome Langenegger, Hugo Barboza de Rezende, 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, Embrapa-UAPNPSA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851 (Brazil); tels.: (021) 782-1081 e 782-1082.

Aos interessados em receber a revista solicitamos preencher o cupom de assinatura impresso no lado interno do involtório deste exemplar, seguindo as instruções contidas no mesmo (*For subscription complete the form printed on the inside of the wrappage of this issue and follow instructions*).

Este número é publicado e distribuído com o apoio do CNPq-Finep,
da Embrapa e UFRRJ.

Figura da capa: *Palicourea marcgravii* com inflorescências, no mês de dezembro, em região de pequenas matas beirando os pastos, onde havia históricos de "morte súbita" em bovinos, no município de Ipanema, Minas Gerais. (Tokarnia e Döbereiner, p. 73)

Cover illustration: Palicourea marcgravii in its flowering stage during the month of December, in the county of Ipanema, Minas Gerais, a region with small forest areas bordering the pasture land where "sudden death" in cattle has been reported. (Tokarnia and Döbereiner, p. 73)

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

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

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

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

v. trim. ISSN 0100-736X

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

CDD 636.089

CDU 619:616(81)(05)

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

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

— uma revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

A Brazilian Journal of Veterinary Research published by the Brazilian College of Animal Pathology

Volume 6

Julho/Setembro 1986

Número 3

SUMÁRIO

Imunoprofilaxia da pleuropneumonia suína com vacina inativada de <i>Haemophilus pleuropneumoniae</i> . I.A. Piffer, R.A. Soncini, M.A.V.P. Brito, J.R.F. Brito & J. Sobestiansky	67-72
Intoxicação por <i>Palicourea marcgravii</i> (Rubiaceae) em bovinos no Brasil. C.H. Tokarnia & J. Döbereiner	73-92
Pré-enriquecimento e enriquecimento direto na Pesquisa de <i>Salmonella</i> em farinha de carne. A. Berchieri Jr., K. Irino, A.C. Paulillo, S.N. Neme, S.A. Fernandes, S.N. Kronka & G.V.A. Pessôa	93-97
Isolamento e identificação do vírus da doença de Aujeszky de surtos em suínos no Estado de Santa Catarina. C.A. Rowe & C.H. Romero	99-103
Importância da braquignatia superior no diagnóstico precoce da rinite atrófica em suínos. J.R.F. Brito, N. Mores, I.A. Piffer, L. Balen & M.A.V. Brito	105-107
Resumos 26-36	109-110

CONTENTS

Immunoprophylaxis of swine pleuropneumonia with an inactivated vaccine against <i>Haemophilus pleuropneumoniae</i> . I.A. Piffer, R.A. Soncini, M.A.V.P. Brito, J.R.F. Brito & J. Sobestiansky	67-72
Poisoning of cattle by <i>Palicourea marcgravii</i> (Rubiaceae) in Brazil. C.H. Tokarnia & J. Döbereiner	73-92
Preenrichment and direct enrichment in survey of <i>Salmonella</i> . A. Berchieri Jr., K. Irino, A.C. Paulillo, S.N. Neme, S.A. Fernandes, S.N. Kronka & G.V.A. Pessôa	93-97
Isolation and identification of Aujeszky's disease virus from outbreaks in swine in the State of Santa Catarina. C.A. Rowe & C.H. Romero	99-103
Role of the superior brachygnathia in the early diagnosis of atrophic rhinitis in pigs. J.R.F. Brito, N. Mores, I.A. Piffer, L. Balen & M.A.V. Brito	105-107
Abstracts of current Brazilian veterinary science literature (in Portuguese)	109-110

ISSN 0100-736X

Pesq. Vet. Bras., Rio de Janeiro, v.6, n.3, p.67-110, jul./set. 1986

XX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Cuiabá, 14-19.7.1986

(Secretaria Executiva: Presidente Dr. Carlos Alberto da Costa Andrade, Rua 13 junho 1060,
CODEAGRI, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, MT 78000)

14.º Congresso Mundial de Buiatria, Dublin, Irlanda, 26-30.8.1986

(Inf.: Dr. H.J. Greene, XIV World Congress on Diseases of Cattle, 44 Northynberland Road,
Dublin 4, Irlanda)

IV Conferência Internacional da Cabra, Brasília, 8-13.3.1987

(Inf.: Dr. Odon P. Santana, Embrapa/DPP, Supercenter Venâncio 2000, 7º and., s. 725, Brasília, DF 70333)

XXIII Congresso Mundial de Veterinária, Montreal, Quebec, Canadá, 16-21.8.1987

(Secretariado: XXIII Veterinary World Congress, 3450, rue University, Montreal, Quebec, Canadá H3A 2A7)

REVISTAS INCLUÍDAS NA PREPARAÇÃO DE RESUMOS
PARA PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

- Anais da Escola de Agronomia e Veterinária, Universidade Federal de Goiás
Anais Esc. Agron. Vet. UFGO, Goiânia
- Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia
Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.
- Arquivos de Biologia e Tecnologia
Arqs Biol. Tecnol., Curitiba
- Arquivos da Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia
Arqs Esc. Med. Vet. UFBA, Salvador
- Arquivos da Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Arqs Fac. Vet. UFRS, Porto Alegre
- Arquivos do Instituto Biológico
Arqs Inst. Biológico, S. Paulo
- Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Arqs Univ. Fed. Rur. Rio de J.
- O Biológico
Biológico, S. Paulo
- Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias "Desidério Finamor"
Boim Inst. Pesq. Vet. Desidério Finamor, Porto Alegre
- Pesquisa Agropecuária Brasileira
Pesq. Agropec. Bras.
- Revista Brasileira de Medicina Veterinária
Revta Bras. Med. Vet.
- Revista Brasileira de Reprodução Animal
Revta Bras. Reprod. Animal
- Revista do Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria
Revta Centro Cienc. Rurais UFSM, Sta Maria
- Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo
Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP, S. Paulo
- Revista de Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense
Revta Fac. Vet. UFF, Niteroi
- Revista de Microbiologia
Revta Microbiol., S. Paulo
- Revista de Saúde Pública
Revta Saúde Públ., S. Paulo

RESUMOS

Pesquisa Veterinária Brasileira traz, em cada número, resumos de trabalhos de ciências veterinárias recentemente publicados em outras revistas brasileiras.

(The journal publishes related abstracts of current Brazilian veterinary science literature.)

DOENÇAS INFECCIOSAS

26. Pagano M.C., Passos W.S. & Cunha R.G. 1985. **Anti-corpos inibidores de hemoaglutinação para os vírus de influenza eqüina em soros de eqüídeos de várias regiões do Brasil.** [Hemagglutination-inhibiting antibodies against Equine Influenza viruses in equidae sera from several Brazilian regions.] *Revta Bras. Med. Vet.* 7(7):194-198. Depto Patologia e Clínica Veterinária, Univ. Fed. Fluminense, Rua Vital Brasil Filho 64, Niterói, RJ 24000.

Um inquérito levado a efeito com o propósito de avaliar a difusão da Influenza Eqüina no Brasil é descrito no presente trabalho. Provenientes de várias regiões do país, 4.838 soros de eqüídeos foram examinados pela prova de inibição de hemoaglutinação frente aos vírus A/equi 1 e A/equi 2. Os seguintes resultados positivos foram registrados para os vírus antes citados: Região Norte: 77,75 e 41,22%; região Nordeste: 30,64 e 24,79%; Estado do Rio de Janeiro: 61,72 e 42,06%; região Sul 31,68 e 42,91%.

Desse total de soros 92 eram provenientes de muare e 262 de asininos. Para os soros de muare foi observada uma positividade de 72,82 e 57,60% para os vírus A/equi 1 e A/equi 2, respectivamente. Para os soros de asininos, os resultados positivos deram uma percentagem de 19,08 e 17,17.

Soros de eqüinos com anticorpos precipitantes para os vírus de Anemia Infecciosa Eqüina apresentaram resultados positivos ou negativos para a Influenza Eqüina.

27. Piffer I.A. & Ross R.F. 1985. **Immunofluorescence technique for detection of Mycoplasma hyopneumoniae in swine lungs.** [Técnicas de imunofluorescência para detecção de Mycoplasma hyopneumoniae em pulmões de suínos.] *Pesq. Agropec. Bras., Brasília*, 20(8):877-882. Centro Nac. Pesq. Suínos e Aves, C.P. D-3, Concórdia, SC 89700.

Compararam-se as técnicas de imunofluorescência direta e indireta e de cultivo na detecção de *Mycoplasma hyopneumoniae* em pulmões de suínos infectados experimentalmente. Estes pulmões foram obtidos de animais SPF após 6 a 7 semanas de início de um período de contato com outros animais SPF inoculados experimentalmente com o agente. Uma boa associação foi encontrada entre o isolamento de *M. hyopneumoniae*, resultados positivos em ambas as técnicas de imunofluorescência e lesões macroscópicas e microscópicas típicas de pneumonia micoplásmica dos suínos. Tanto a imunofluorescência direta como indireta foram igualmente eficientes na detecção de *M. hyopneumoniae* em secções de pulmão. Uma coloração azo de fundo reduziu a fluorescência inespecífica e possibilitou um bom contraste de cor sem reduzir a sensibilidade do método indireto de imunofluorescência.

28. Jorge M.A., Fábio J.D., Silva E.N. & Hipólito O. 1985. **Vacinação de frangos de corte contra a doença respiratória crônica com a amostra Conn. F de Mycoplasma gallisepticum.** [Vaccination of broilers against respiratory disease with the Conn. F strain of Mycoplasma gallisepticum.] *Pesq. Agropec.*

Bras., Brasília, 20(8):917-920. Univ. Fed. Minas Gerais, Esc. Vet., C.P. 565, Belo Horizonte, MG 30000.

A vacinação ocular de frangos de corte, com um dia de idade, com a amostra Conn. F de *Mycoplasma gallisepticum* (MG), induziu resposta sorológica específica e proteção contra a doença respiratória crônica. O desafio foi feito aos 30 dias de idade pela inoculação da amostra R de MG no saco aéreo torácico esquerdo. As aves vacinadas apresentaram, antes e após o desafio, títulos de inibição da hemaglutinação (HI) maiores do que as aves não-vacinadas. As percentagens de aglutinação no teste em placa, antes do desafio, foram maiores entre as aves vacinadas. Ao final do desafio, elas foram praticamente idênticas em ambos os tratamentos. As aves vacinadas apresentaram lesões de aerossaculite com frequência e intensidade menores do que as aves não-vacinadas ($P < 0,05$). Quando grupos de aves de tratamentos diferentes eram comparados, a resposta sorológica e a proteção observadas relacionavam-se positivamente. Alguns indivíduos com altos títulos de HI, entretanto, apresentaram lesões graves de aerossaculite, e vice-versa. Não foram observadas reações vacinais adversas graves entre as aves vacinadas, além de espirros ocasionais de pequena intensidade.

29. Langoni H., Corrêa C.N.M., Corrêa W.M., Barros J.A. & Corrêa G.N. 1985. **Mastites bovinas por Candida e Klebsiella.** [Bovine mastitis by Candida and Klebsiella.] *Revta Bras. Med. Vet.* 7(7):203-204. Fac. Med. Vet. Zootecnia, UNESP, C.P. 523, Botucatu, SP 18610.

São descritos dois surtos de mastites bovinas, um, em fazenda com 500 vacas, das quais, oitenta e duas apresentavam leite com prova de Whiteside positiva, isolando-se *Candida Krusei*, e outro, em granja com 86 vacas, das quais, quarenta e duas produziam leite positivo à prova de Whiteside, isolando-se exclusivamente *Klebsiella pneumoniae*. Tratamento com Mycostatin, no primeiro caso, e com Polimixina B no segundo, mais a mudança de manejo sanitário e da ordenha, levaram à cura clínica e bacteriológica dos dois rebanhos.

DOENÇAS PARASITÁRIAS

30. Lima W.S., Guimarães M.P. & Leite A.C.R. 1985. **Custo-benefício de diferentes dosificações anti-helmínticas em relação ao ganho de peso de bezerros de corte.** [Cost benefit of different anthelmintic dosages in relation to weight gain of beef calves.] *Pesq. Agropec. Bras., Brasília*, 20(11):1333-1335. Depto Parasitologia, Inst. Ciênc. Biológicas, Univ. Fed. Minas Gerais, C.P. 2485, Belo Horizonte, MG 30000.

Durante um ano, quatro grupos de dez bezerros de corte receberam números diferentes de tratamentos anti-helmínticos. Os animais do grupo A receberam um tratamento, os do grupo B, dois tratamentos, os do grupo C, três tratamentos e os do grupo D serviram como controle. Foi calculado o custo-benefício dos tratamentos, sendo que o grupo C teve um ganho econômico 21,49%, o grupo B 5,40% e o grupo A 1,55% maior do que o ganho do grupo D.

31. Ramos C.I. & Gutierrez V.C. 1985. **Dinâmica populacional de *Trichostrongylus* spp. e *Cooperia* spp. em bovinos no planalto Catarinense.** [Populational dynamics of *Trichostrongylus* spp. and *Cooperia* spp. in calves on the highlands of Santa Catarina.] *Pesq. Agropec. Bras., Brasília*, 20(11):1337-1349. Empresa Catarinense de Pesq. Agropecuária (EMPASC), C.P. 181, Lages, SC 88500.

Este trabalho foi realizado no período de 1977 a 1981, no planalto catarinense, a fim de avaliar a influência do clima, daquela região, na epizootiologia dos gêneros *Cooperia* spp. e *Trichostrongylus* spp em terneiros desmamados de 7 a 20 meses de idade, quando mantidos em pastagens nativas e identificar as diferentes espécies destes gêneros em bovinos. As 143 necrópsias revelaram alta prevalência média para os gêneros *Cooperia* (99,3%) e *Trichostrongylus* (98,6%) e uma intensidade média de infecção de 7.878 (60 a 30.890) e 18.973 (63 a 72.160) parasitos, respectivamente. O gênero *Cooperia* foi representado por cinco espécies, que são, por ordem decrescente de prevalência média mensal e intensidade de infecção: *C. punctata* (100%) e *C. oncophora* (91,6%), *C. mcmasteri* (75%), *C. spatulata* (62,5%) e *C. curticei* (8,3%), e o gênero *Trichostrongylus* por três espécies: *T. axei* (100%), *T. colubriformis* (2,8%) e *T. longispicularis* (2,1%). Este é o primeiro registro das espécies *C. mcmasteri*, *C. spatulata* e *T. longispicularis* parasitando bovinos no Estado de Santa Catarina. As infecções por *Cooperia* spp, variaram de um ano para o outro e estiveram significativamente influenciadas pelas variações da precipitação pluvial. *Trichostrongylus* apresentou-se com os maiores índices de infecções, sempre no verão e outono, e foi significativamente mais influenciado pelas médias das temperaturas sempre no verão e outono, e foi significativamente mais influenciado pelas médias das temperaturas mínimas e máximas.

32. Furlong J., Novas J.C.V. & Cardoso Filho J.B. 1985. **Parasitoses dos bovinos na região da zona da mata de Minas Gerais. II. Incidência estacional de nematódeos pulmonares.** [Cattle parasitosis in the Zona da Mata region of Minas Gerais, Brazil. II. Seasonal incidence of lung nematodes.] *Pesq. Agropec. Bras., Brasília*, 20(12):1409-1413. Centro Nac. Pesq. Gado de Leite, Embrapa, Rod. MG 133, Km 42, Coronel Pacheco, MG 36155.

Para estudar a dinâmica populacional de larvas infectantes de *Dictyocaulus viviparus* na pastagem, foram realizadas necropsias mensais de dois bezerros traçadores, à razão de dois por mês, no período de outubro de 1980 a setembro de 1982, totalizando 48 animais. As condições climáticas da região permitiram o desenvolvimento e a sobrevivência de larvas na pastagem durante o ano todo, mas a maior incidência ocorreu durante o inverno, quando média da temperatura mínima foi de 11°C. As infecções sofridas pelos bezerros a partir do início do outono aumentaram a incidência de larvas infectantes no inverno.

PATOLOGIA, CLÍNICA E CIRURGIA

33. Alencar O.A., Freitas C.E.A., Roehle P.M., Rodrigues I. & Severo J.E.V. 1986. **Avaliação de comportamento de produtos à base de warfarina 3-(alfa acetoniilbencil)-4-hidroxycumarina no combate aos morcegos hematófagos por aplicação via intramuscular (IM) em bovinos.** [Application, via intramuscular route, of three preparations containing Warfarin 3-(Alpha Acetonilbenzil)-4-Hydroxycoumarin in cattle to fight vampire bats.] *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 38(1):43-50. Delegacia Federal de Agricultura, Rua Taumaturgo de Azevedo, 2315, Teresina, PI 64000.

Três preparações à base de warfarina 3-(alfa acetoniilbencil)-4-hidroxycumarina foram testadas no combate ao morcego

hematófago *Desmodus rotundus*, através da aplicação por via IM em bovinos. O Vampirinip III apresentou melhor rendimento dentre as três, seguido da Wag e da Wol. A aplicação de warfarina via IM em bovino se mostrou um método viável dentro das condições deste estudo, constituindo-se em mais uma arma aplicável ao controle a nível populacional do *D. rotundus*.

34. Láu H.D. & Singh N.P. 1985. **Eczema facial em ovinos intoxicados por *Pithomyces chartarum* em pastagem de quicuío-da-amazônia.** [Facial Eczema in ovines intoxicated with *Pithomyces chartarum* in pasture of Quicuío of Amazônia.] *Pesq. Agropec. Bras., Brasília*, 20(8):873-875. Centro Pesq. Agropec. Trópico Úmido, Embrapa, C.P. 48, Belém, PA 66000.

Notifica-se a ocorrência de eczema facial em doze ovinos sem lã intoxicados por *Pithomyces chartarum*. Os animais, pertencentes ao Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido (CPATU) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) e mantidos exclusivamente, em quicuío-da-amazônia (*Brachiaria humidicola*), apresentaram os seguintes sintomas: anorexia, depressão, lacrimejamento, tumefação das pálpebras com prurido e queda dos pêlos da região nasal e ao redor dos olhos, além de tumefação das orelhas com necrose e descamações das camadas superficiais da pele. Os animais, retirados da pastagem no início dos sintomas e tratados com antitóxico, apresentaram recuperação. Identificaram-se, nas amostras de pastagem, conídios do fungo *Pithomyces chartarum* (Berk & Curt.) M.B. Ellis.

35. Sousa J.C. & Darsie G. 1985. **Deficiências minerais em bovinos de Roraima, Brasil. I. Zinco e cobalto.** [Mineral deficiency in cattle of Roraima, Brazil. I. Zinc and cobalt.] *Pesq. Agropec. Bras., Brasília*, 20(11):1309-1316. Centro Nac. Pesq. Gado de Corte, Embrapa, C.P. 154, Campo Grande, MS 79100.

Foi feito um levantamento das deficiências minerais em bovinos, de seis regiões localizadas a nordeste do Território Federal de Roraima. Foram amostrados solos, plantas forrageiras e tecido animal (fígado), nas estações seca e chuvosa. Foi encontrada deficiência de Zn nas forrageiras, em todas as regiões estudadas. Os níveis de Zn no fígado dos animais foram baixos em todas as regiões; estas deficiências eram mais pronunciadas no período chuvoso (79 ppm em animais adultos e 76 ppm em jovens). Os níveis de Co nos solos em cinco regiões foram 0,32, 0,25, 0,18 e 0,12 ppm, e em uma, 0,06 ppm. Nas forrageiras, o nível de Co foi adequado em apenas uma região, mas o tecido hepático dos animais as concentrações de Co foram normais em todas as regiões. Co foi deficiente em quatro espécies, e adequado às exigências nutricionais dos bovinos em outras quatro, de um total de oito espécies amostradas.

36. Ohashi O.M., Vale W.G., Vale Filho V.R. & Souza J.S. 1984. **Ocorrência de alterações do sistema genital de búfalas (*Bubalus bubalis*), abatidas em matadouro: II. Condições anômalas do útero placenta e embrião.** [Occurrence of alterations in the genital tract of slaughtered water buffalo cows (*Bubalus bubalis*). II. Abnormal conditions of uterus, placenta and embryos.] *Revta Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte*, 8(1): 41-45. Centro Ciênc. Biológicas, Univ. Fed. Pará, Belém, PA 66000.

Em 590 sistemas genitais de búfalas abatidas em matadouro observaram-se 11,94% de alterações de útero, com predominância dos processos inflamatórios (7,45%). Foram também verificadas 3,51% de condições anômalas da placenta e do embrião, sendo mais freqüentes a placenta adventícia e a morte embrionária, cujas incidências foram de 1,18 e 1,01% respectivamente.

DIAGNÓSTICO DE INTOXICAÇÃO POR PLANTA EM BOVINOS E OUTROS HERBÍVOROS

As causas mais importantes de mortes de bovinos adultos no Brasil são a raiva, o botulismo e as plantas tóxicas. As mortes provocadas por plantas tóxicas, na maioria dos casos, são de impacto, porque quase sempre são responsáveis pela morte de mais de um animal ao mesmo tempo, têm evolução superaguda ou aguda, e afetam geralmente os animais em melhor estado de nutrição.

Já se conhece a maioria das plantas tóxicas mais importantes do Brasil. Para poder adotar medidas profiláticas adequadas, é preciso estabelecer diagnósticos seguros e específicos de intoxicação pela planta envolvida. O diagnóstico vago de "intoxicação por planta" ou "fitotoxicose" não é suficiente, pois não ajuda a resolver o problema.

Como não se deve proceder

Muitos técnicos, quando suspeitam de intoxicação por planta e pretendem estabelecer um diagnóstico específico, pensam logo no isolamento de princípios tóxicos, ou das plantas suspeitadas ou do conteúdo do tubo digestivo e de outros órgãos do cadáver. Estas idéias prevaleceram durante muito tempo e existem ainda hoje em diversas Universidades e Institutos de Pesquisa, onde o estudo das plantas tóxicas é feito nos Setores de Química ou Farmacologia. Os que pensam assim, obterão resultados muito precários, geralmente nenhum, com raras exceções. Porque ocorre isto, ao contrário do que acontece em relação às intoxicações de outras naturezas, como por exemplo de metais pesados? As razões são as seguintes: 1) de muitas das plantas tóxicas brasileiras não se conhecem os princípios tóxicos; seria necessário conhecê-los de espécie por espécie; 2) mesmo em países onde se conhecem os princípios tóxicos da maioria de suas plantas tóxicas, isto não é um procedimento possível rotineiramente, pela complexidade da parte química relacionada com esses princípios tóxicos. Além disso, seriam necessárias análises qualitativa e quantitativa. Exceção são as plantas de alguns grupos, como as que contêm glicosídeos cianogênicos, as ricas em oxalatos ou nitratos/nitritos, isto é, plantas que têm, como princípio tóxico, substâncias de estrutura química simples e mais fáceis de serem dosadas.

Como se deve proceder

O diagnóstico de intoxicação por planta só pode ser feito pelo veterinário que conhece as plantas tóxicas de sua região e os quadros clínico-patológicos causados por cada uma delas. Deve basear-se, como no caso de outras doenças, no maior número possível de dados, sobretudo no histórico, nas condições da ocorrência da intoxicação, nas observações clínicas e nos achados de necropsia. Pelo conjunto desses dados, obtidos no campo, o veterinário geralmente chega a um diagnóstico seguro. Antes de dar o diagnóstico, deve percorrer o campo onde os animais pastaram, e verificar se a planta suspeitada realmente existe e em quantidade suficiente para poder causar a intoxicação. Em algumas intoxicações há alterações histopatológicas bastante características, que poderão ser úteis para a confirmação desse diagnóstico.

Às vezes é necessário recorrer ao laboratório para o diagnóstico diferencial de doenças causadas por outros agentes cuja ação

e sintomatologia são semelhantes às das causadas pela planta tóxica, como por exemplo nos casos de intoxicação por algumas plantas hepatotóxicas deve ser excluída a raiva e no caso da intoxicação por plantas que causam "morte súbita" o carbúnculo hemático.

Esse procedimento pode parecer difícil ao veterinário de campo por exigir muitos conhecimentos, sabendo-se que há no Brasil mais que 50 plantas tóxicas de interesse agropecuário. Mas na realidade as plantas tóxicas, como o resto da flora, tem uma distribuição regional, com apenas algumas exceções. Cada região do Brasil (Norte, Nordeste, Sudeste, Centro-Oeste e Sul) tem entre 10 e 15 plantas tóxicas. Dentro de cada Região esse número ainda se divide, de maneira que o veterinário de campo somente precisa reconhecer as poucas plantas tóxicas que ocorrem em sua área de atuação e conhecer os quadros clínico-patológicos e os outros dados concernentes à toxidez dessas plantas, como condições em que ocorre a ingestão da planta, fatores de manejo envolvidos e a dose letal.

É preciso alertar o veterinário para não se deixar levar por duas tendências comuns no meio rural. A primeira consiste em não reconhecer a intoxicação por certas plantas como tal; por exemplo, na Região Sudeste, de uma maneira geral, os casos de intoxicação por *Palicourea marcgravii* ("erva-de-rato") são tidos como carbúnculo hemático; na Região Norte os casos de intoxicação por esta planta são geralmente atribuídos a picada de cobra; em Minas Gerais, a intoxicação aguda por *Pteridium aquilinum* ("samambaia") em bovinos é diagnosticada como sendo pasteurelose. E a segunda tendência consiste em usar o "diagnóstico" de intoxicação por planta na falta de uma causa mais aparente pela morte do animal, ou seja, na falta de um diagnóstico correto.

Chegando-se à conclusão de que se deve tratar de intoxicação por planta ainda não estudada, há necessidade de encaminhar o assunto para a pesquisa. Essa usa como método principal a experimentação, que inicialmente deve ser feita na espécie animal que é afetada sob condições naturais, e com a planta fresca recém-colhida que deve ser administrada por via oral. É a maneira mais fácil, rápida, econômica e segura de determinar a eventual toxicidade de uma planta suspeitada. Somente numa segunda fase se iniciarão os estudos que visam ao isolamento de princípios tóxicos, que são estudos longos, difíceis, complexos e dispendiosos, e que muitas vezes ocupam grupos de químicos durante anos. Querer identificar plantas tóxicas começando pelo lado químico, isto é, procurando por seus princípios tóxicos, seria "colocar o carro adiante dos bois"

CARLOS HUBINGER TOKARNIA
e JÜRGEN DÖBEREINER

Depto Nutrição Animal-UFRJ
e Embrapa-UAPNPSA, Km 47
23851 Seropédica, Rio de Janeiro

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

IMUNOPROFILAXIA DA PLEUROPNEUMONIA SUÍNA COM VACINA INATIVADA DE *Haemophilus pleuropneumoniae*¹

ITAMAR A. PIFFER², RICARDO A. SONCINI², MARIA APARECIDA V. P. BRITO², JOSÉ RENALDI F. BRITO² e JURIJ SOBESTIANSKY²

ABSTRACT.- Piffer I.A., Soncini R.A., Brito M.A.V.P., Brito J.R.F. & Sobestiansky J. 1985. [Immunoprophylaxis of swine pleuropneumonia with an inactivated vaccine against *Haemophilus pleuropneumoniae*.] Immunoprophylaxia de pleuropneumonia suína com vacina inativada de *Haemophilus pleuropneumoniae*. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 8(3):67-72. Centro Nac. Pesq. Suínos e Aves (CNPISA), Embrapa, C. Postal D-3, Concórdia, SC 89700, Brazil.

The effectiveness of a bacterin in the prevention of pleuropneumonia of swine was tested. The bacterin was prepared from a strain of *H. pleuropneumoniae*, serotype 5, and adsorbed to aluminum hydroxide. Six sows were vaccinated at 60 and 100 days of gestation (VS) and seven were not vaccinated (NVS). Piglets born to VS were divided into three treatment groups: unvaccinated; vaccinated at 40 days of age; and vaccinated at 25 and 40 days of age. Those born to the NVS were divided into two groups: unvaccinated and vaccinated at 25 and 40 days of age. On third of the piglets from each treatment groups was challenged with a strain of *H. pleuropneumoniae*, serotype 5, at 70 days of age. In piglets born to VS, respiratory symptoms were observed less frequently, *H. pleuropneumoniae* was found less often in the nasal cavity after challenge, a lower mortality rate was noted, and less severe lesions characteristic of pleuropneumonia were seen than in piglets born to NVS. Piglet vaccination schedules did not interfere with the above mentioned parameters.

INDEX TERMS: Vaccination, *Haemophilus pleuropneumoniae*, swine pleuropneumoniae.

SINOPSE. - Testou-se a eficiência de uma bacterina preparada com *H. pleuropneumoniae*, sorotipo 5, e adsorvida em hidróxido de alumínio, na prevenção de pleuropneumonia suína. Vacinou-se seis matrizes (MV) aos 60 e 100 dias de gestação, e sete não foram vacinadas (MNV). Os leitões originados das MV foram divididos em três tratamentos: não vacinados, vacinados aos 40 dias e aos 25 e 40 dias de idade. Os originados das MNV foram divididos em dois grupos: vacinados aos 25 e 40 dias e não vacinados. Um terço dos leitões de cada tratamento foi inoculado com *H. pleuropneumoniae*, sorotipo 5, aos 70 dias de idade. Leitões originados de MV apresentaram menor ocorrência de sintomas respiratórios, menor presença de *H. pleuropneumoniae* na cavidade nasal após a agressão, menor índice de mortalidade e menor ocorrência de severidade de lesões compatíveis com a pleuropneumonia suína do que aqueles originados de MNV. Os esquemas de vacinação aplicados aos leitões não interferiram nos parâmetros acima mencionados.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Vacinação, *Haemophilus pleuropneumoniae*, pleuropneumonia suína.

INTRODUÇÃO

A pleuropneumonia suína (PPS), causada pelo *Haemophilus pleuropneumoniae* (Hpp), foi diagnosticada recentemente no Brasil (Locatelli et al. 1981). A partir de então, vários surtos foram observados no sul do Brasil, sendo que o sorotipo 5 de Hpp é o prevalente (Piffer et al. 1983).

As perdas econômicas decorrentes da PPS recaem, tanto sobre o produtor, em consequência de perdas de animais, gastos com medicamentos e redução do desenvolvimento corporal, como sobre a indústria, em virtude da condenação de carcaça de animais afetados pela doença. No Brasil, perdas econômicas graves causadas pela PPS foram observadas em sistemas de produção que terminavam leitões obtidos de várias origens, em sistemas contínuos de produção e com unidades terminadoras com capacidade de 600 ou mais animais (Piffer et al. 1982). Em uma destas propriedades, os prejuízos observados por morte de animais e despesas com medicamento, nos três meses correspondentes à fase aguda do surto, representaram perdas equivalentes a 31.681 kg de suínos em condições de abate (Protas et al. 1985).

Nestes sistemas, a vacinação pode ser uma alternativa para auxiliar no controle da doença. Vários autores tem estudado o efeito da vacinação, em diferentes esquemas, para o controle da PPS (Nielsen 1979, Mason et al. 1982, Kielstein et al.

¹ Aceito para publicação em 20 de maio de 1986.

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

1982, Nielsen 1984 e Nakai et al. 1985). Sintetizando-se o trabalho destes autores; pode-se dizer que, a vacinação das matrizes associada com a subsequente vacinação dos leitões (duas ou mais vezes) é essencial para uma boa proteção. Além disso, a vacina deve conter os sorotipos prevalentes em determinada região. Na ausência de vacina disponível no mercado contra o Hpp, no Brasil, objetivamos, neste trabalho, desenvolver e testar uma bacterina produzida com o sorotipo prevalente, adsorvida em hidróxido de alumínio, em diferentes esquemas de vacinação, para o controle da PPS.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais experimentais

Utilizou-se 13 matrizes e suas leitegadas, sendo nove da raça Landrace e quatro da raça Large White. Estas matrizes originaram-se de um rebanho que, até então, não apresentara sinais clínicos de PPS.

Bacterina

Empregou-se uma bacterina produzida com a amostra 463/81 de *H. pleuropneumoniae*, sorotipo 5, isolada de um surto de pleuropneumonia suína, no Estado de Santa Catarina (Piffer et al. 1983). Esta amostra foi cultivada com garrafas de Roux que continham, como substrato para multiplicação, "Trypticase soy agar" acrescido de 5% de extrato de levedura fresco. Após 18 horas de incubação a 37°C, o induto bacteriano foi coletado, com salina, padronizado para conter 10⁹ unidades formadoras de colônia por ml (UFC), inativado com formalina a 0,2% e adsorvido em hidróxido de alumínio.

Delineamento experimental

As matrizes foram divididas em dois grupos: seis vacinadas (MV) e sete não vacinadas (MNV). As MV foram aos 60 e 100 dias de gestação, com a bacterina experimental, via subcutânea, na tábua do pescoço, na dosagem de 4 ml. Os leitões originados de todas as matrizes foram desmamados aos 35 dias de idade.

Após o desmame de todos os leitões, formou-se os tratamentos. Cada leitegada de MV foi dividida, aleatoriamente, em três tratamentos; A, B e C, e cada leitegada de MNV foi dividida, aleatoriamente, em dois tratamentos; D e E.

- Tratamento A - 18 leitões não vacinados;
- Tratamento B - 18 leitões vacinados aos 25 e 40 dias de idade;
- Tratamento C - 15 leitões vacinados aos 40 dias de idade;
- Tratamento D - 32 leitões vacinados aos 25 e 40 dias de idade;
- Tratamento E - 28 leitões não vacinados.

A vacinação nos leitões foi subcutânea, na dobra da virilha, na dosagem de 2 ml.

Os animais de cada tratamento foram alojados em uma única baia e cada animal contou com o mesmo espaço físico e espaço em comedouros e bebedouros.

Todos os tratamentos eram contíguos, separados por partições sólidas de madeira, onde os animais foram inoculados e os sobreviventes permaneceram até o abate, aos 150 dias de idade.

Inoculação

Aos 70 dias de idade, 1/3 dos leitões de cada tratamento foi inoculado, com 1 ml, em cada narina, com um cultivo de 6 horas de incubação a 37°C da amostra 463/81 em "Trypticase soy broth" com 5% de extrato de levedura fresco. O inóculo continha 3 x 10⁷ UFC/ml.

Exame clínico

A cada três dias, os animais eram movimentados, duas vezes por dia, durante dois minutos, registrando-se o percentual de animais que apresentavam sintomatologia respiratória.

Exame sorológico

Soro de todas as matrizes foi coletado antes da vacinação. Dois leitões, coletou-se no terceiro e décimo quinto dia de vida e, a seguir, quinzenalmente, até os 150 dias de idade. Estes soros foram estocados a -20°C, até o momento de submetê-los ao teste de soroaglutinação.

O teste de soroaglutinação com 2-mercaptoetanol em microplacas (Cooke Engineering Co. Alexandria Va) foi conduzido de acordo com os procedimentos descritos por Piffer et al. (1985). Um animal foi considerado positivo quando apresentava títulos iguais ou superiores a 1:8.

Exame bacteriológico

Processaram-se exames semanais das secreções nasais de todos os leitões e de secreções traqueais de fragmentos de pulmões e outros órgãos afetados dos animais que morreram após a inoculação e dos sobreviventes acompanhados ao abate. As secreções nasais e traqueais foram coletadas através de "swabs". Tanto os "swabs" como os fragmentos de pulmões foram semeados em meio de ágar com 5% de sangue de carneiro desfibrinado (AS) e em ágar MacConkey (MC). Perpendicularmente à sementeira em AS, cultivou-se, em uma linha contínua, uma amostra de *Staphylococcus aureus*. As placas de AS foram incubadas a 37°C por 24 horas e as de MC por 48 horas. Os fragmentos de pulmão foram semeados através do contato direto dos mesmos com a superfície dos meios, e porções destes fragmentos foram congelados a -20°C, para posterior tentativa de isolamento pela técnica de diluições (Little & Harding 1980), quando os resultados eram negativos pelo cultivo direto. Colônias β hemolíticas, que apresentaram satelitismo e efeito CAMP a *S. aureus* e formadas por cocobacilos Gram negativos, foram consideradas como de *H. pleuropneumoniae*.

Exame morfológico

Todos os animais que morreram durante o experimento e aqueles sobreviventes e acompanhados ao matadouro tiveram seus pulmões e pleuras examinados, registrando-se a ocorrência de congestão e hepatização pulmonar, bem como aquelas lesões características de infecção por *H. pleuropneumoniae*. As lesões de pleurisia parietal, observadas ao abate, foram classificadas de acordo com o percentual de cada pleura afetada. Um escore total de severidade de pleurisia foi obtido pela soma dos escores parciais de ambas as pleuras. A graduação das lesões foi a seguinte: 0 = sem lesões, 0,5 = 0,1 a 1 cm; 1 = 3 até 25%; 2 = de 26 a 50%; 3 = 51 a 75% e 4 = de 76 a 100% de pleura afetada.

Exame histopatológico

Coletou-se fragmentos de todas as lesões pulmonares e, também fragmentos sempre do mesmo local, daqueles lobos que não apresentaram lesões. Estes fragmentos foram fixados em formol a 10%, embebidos em parafina e, em cortes histológicos, corados pela hematoxilina-eosina.

Análise estatística

Os tratamentos foram comparados entre si, pelo teste de qui-quadrado, com respeito à taxa de mortalidade, ocorrência de *H. pleuropneumoniae* nas cavidades nasais após a agressão, ocorrência e severidade das lesões compatíveis com a pleuropneumonia suína.

RESULTADOS

Sintomas clínicos

Respiração pouco profunda e acelerada foram os primeiros sinais clínicos observados após a agressão (AA). Estes sintomas ocorreram com maior frequência entre leitões oriundos de MNV do que entre aqueles originados de MV. Observou-se, ainda, que, nos leitões oriundos de MV, este quadro respiratório restringiu-se aos primeiros quatro dias após AA, mas que, entre os leitões originados da MNV, o mesmo persistiu por 41 dias.

Quadro 1. Ocorrência de *Haemophilus pleuropneumoniae*, nas fossas nasais dos leitões, após a agressão

Semanas após a agressão	Leitões oriundos de matrizes vacinadas				Leitões oriundos de matrizes não vacinadas		
	Não vacinados A(a)	Vacinados 25 e 40 dias B	Vacinados 40 dias C	Total*	Vacinados 25 e 40 dias D	Não vacinados E	Total
1	2/18(b)	2/19	0/15	4/52	12/28	11/29	23/56
2	1/18	3/18	1/15	5/51	1/24	3/27	4/49
3	2/18	4/18	1/15	7/51	1/24	2/26	3/49
4	0/18	2/18	0/15	2/51	0/24	0/26	0/49
5	0/18	1/18	0/15	1/51	0/24	0/26	0/49
6 - 8	0/18	0/17	0/15	0/50	0/24	0/25	0/49
9	0/18	1/17	0/14	1/49	0/24	0/25	0/49

(a) Em relação à primeira semana, os tratamentos A e B diferem de D e E ($t < 0.05$) e C difere de D e E ($P < 0,005$);

(b) Número de leitões positivos sobre número de leitões observados.

* A ocorrência de Hpp nas cavidades nasais de leitões originados de MV após uma semana de agressão, é menor do que naquelas originados de MNV ($P < 0.005$).

Tosse, também, foi observada. Nos leitões das MV, a mesma começou a se manifestar a partir de 38 dias AA, enquanto que nos leitões originados das MNV este sintoma iniciou-se cinco dias após a inoculação e com maior frequência. A medida que os animais aproximavam-se da idade de abate, a frequência de tosse tendeu a equiparar-se entre os tratamentos.

Persistência de H. pleuropneumoniae nas fossas nasais após a agressão

No Quadro 1, sumariza-se a ocorrência de *H. pleuropneumoniae* na cavidade nasal AA.

Observa-se que o agente etiológico foi isolado da cavidade nasal até a terceira semana AA, exceto no Tratamento B, em que o mesmo persistiu, em um leitão, até a nona semana.

A ocorrência de *H. pleuropneumoniae*, entre os tratamentos, diferiu apenas na primeira semana AA. Os Tratamentos A, B e C diferiram de D e E ($P < 0,05$), enquanto que os Tratamentos A, B e C não diferiram entre si, e D não diferiu de E ($P > 0,05$).

Avaliação morfológica e bacteriológica dos leitões que morreram durante o experimento

Durante o experimento, morreram 16 leitões, sendo 13 pela pleuropneumonia. Destes 13 animais, todos (100%) apresentaram pleuropneumonia fibrinosa bilateral, dez (77%) pericardite e quatro (31%) peritonite. Além disso, hepatização pulmonar foi observada em todos os animais. Os exames histopatológicos confirmaram os achados macroscópicos. Observou-se, principalmente, pleuropneumonia fibrinosa e fibrinonecrótica.

No Quadro 2, registra-se a frequência de mortalidade observada entre os tratamentos. A mortalidade, no Tratamento B e C, ocorreu, respectivamente, 46 e 63 dias após a inoculação. No Tratamento D, a mesma ocorreu com uma amplitude de 2 a 10 dias, tendo por média 6 dias. No Tratamento E, a ocorrência média da mortalidade foi no sexto dia, com uma amplitude de 01 a 14 dias AA. O índice de mortalidade entre os leitões de MV foi significativamente menor do que aquele observado entre leitões originados de MNV ($P < 0,03$). Por outro lado, os Tratamentos A e B diferem de D, respectivamente, com níveis de significância de $P < 0,05$ e $P < 0,10$.

Lesões pneumônicas características de pneumonia micoplásmica dos suínos também foram observadas. No exame bacteriológico, *H. pleuropneumoniae* foi isolado da cavidade nasal em 11/11 (100%), do pulmão de 13/13 (100%), da pleura

Quadro 2. Ocorrência de mortalidade por *Haemophilus pleuropneumoniae*, após a agressão

Número de animais	Leitões oriundos de matrizes vacinadas				Leitões oriundos de matrizes não vacinadas		
	Não vacinados A	Vacinados 25 e 40 dias B	Vacinados 40 dias C	Total*	Vacinados 25 e 40 dias D(a)	Não vacinados E	Total
Mortos	0	1	1	2	8	3	11
Vivos	18	17	14	49	24	25	49
Total	18	18	15	51	32	28	60

(a) O Tratamento D difere de A ($P < 0,05$) e de B ($P < 0,10$).

* O índice de mortalidade entre leitões de MV foi menor do que aquele observado entre leitões de MNV ($P < 0,03$).

Quadro 3. Distribuição dos leitões, em categorias de número de lobos pulmonares afetados com pleurisia, observados ao abate

Categoria de número de lobos afetados c/pleurisia	Leitões oriundos de matrizes vacinadas				Leitões oriundos de matrizes não vacinadas		
	Não vacinados A(a)	Vacinados 25 e 40 dias B	Vacinados 40 dias C	Total*	Vacinados 25 e 40 dias D	Não vacinados E	Total*
0	13	10	9	32	9	6	15
1 - 2	4	6	4	14	8	12	20
3 - 7	1	1	1	3	7	7	14
Total	18	17	14	49	24	25	49

(a) Tratamentos A, B e C não diferem entre si ($P > 0,05$) mas todos diferem de E ($P < 0,01$).

* A distribuição de leitões, nas categorias de número de lobos afetados com pleurisia, oriundos de MV difere daquela de MNV ($P < 0,001$).

Quadro 4. Distribuição de leitões, em categorias de severidade de pleurisia parietal, observados ao abate

Categoria de severidade de lesões	Leitões oriundos de matrizes vacinadas				Leitões oriundos de matrizes não vacinadas		
	Não vacinados A(a)	Vacinados 25 e 40 dias B	Vacinados 40 dias C	Total*	Vacinados 25 e 40 dias D(b)	Não vacinados E	Total*
0	10	9	7	26	9	7	16
0,5	3	2	5	10	4	3	7
1	4	3	0	7	4	2	6
1,5 - 2	0	1	1	2	3	8	11
2,5 - 6	1	2	1	4	4	5	9
Total	18	17	14	49	24	25	49

(a) Tratamentos A, B e C não diferem entre si ($P > 0,05$) mas A difere de E ($P < 0,05$).

(b) Tratamento D não difere de E ($P > 0,05$).

* A distribuição de leitões, nas categorias de pleurisias, oriundas de MV difere daquela de MNV ($P < 0,05$).

12/13 (92%), do saco pericárdico de 8/10 (80%) e do peritônio de 4/10 (40%) dos animais que morreram pela doença.

Avaliação morfológica e bacteriológica dos leitões sobreviventes e examinados ao abate

No Quadro 3, registra-se a ocorrência de pleurisia lobar. Observa-se que o número de lobos pulmonares afetados com pleurisia foi menor entre leitões originados de MV do que naqueles oriundos de MNV ($P < 0,001$). Os Tratamentos A, B e C não diferiram entre si, e o D não diferiu de E ($P > 0,05$). No Quadro 4, registra-se a severidade da pleurisia parietal. Esta foi menor entre leitões originados de MV do que naqueles originados MNV ($P < 0,05$). Os tratamentos A, B e C não diferiram entre si ($P < 0,05$), mas o Tratamento A diferiu de E ($P < 0,05$) e este não diferiu de D ($P > 0,05$).

Lesões microscópicas de pleurisia e fibrose pulmonar, embora não patognomônicas, foram relacionadas com lesões crônicas de pleuropneumonia. Leitões oriundos de MV e que não foram vacinados (Tratamento A) apresentaram menor ocorrência destas lesões ($P < 0,025$) do que aquelas oriundas de MNV e que não foram vacinados (Tratamento E). Além disso, leitões

originados de MV apresentaram uma menor ocorrência desta patologia ($P < 0,05$).

Lesões de hepatização pulmonar, com característica de pneumonia enzoótica, foram observadas em 78% dos animais, distribuídos em todos os tratamentos.

No exame bacteriológico das secreções nasais, traquiais e de fragmentos de pulmões, não se isolou, em nenhuma oportunidade, *H. pleuropneumoniae*.

Sorologia

Não foram detectadas aglutininas resistentes ao 2-mercaptopetanol no soro das matrizes, antes de se iniciar o experimento, e também nos soros dos leitões, coletados no 3º, 15º e 30º dia de vida. Antes da agressão, soroconversão foi observada somente em alguns leitões após a vacinação: 44%, 46% e 58%, respectivamente para os Tratamentos B, C e D. Vinte dias após a agressão, 90% dos leitões originados das MV e 100% daqueles originados de MNV apresentaram títulos aglutinantes. Entre os leitões originados de MV, os títulos mais frequentes situaram-se entre 1:8 a 1:32, enquanto que entre aqueles das MNV o mesmo situou-se entre 1:16 e 1:64. Aos 150 dias de idade,

68% dos leitões originados de MV e 67% dos leitões das MNV apresentaram títulos que situavam entre 1:8 e 1:16.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que os leitões originados de matrizes vacinadas e agredidas aos 70 dias de idade apresentaram uma menor ocorrência de sintomas respiratórios associados à pleuropneumonia suína, um menor índice de mortalidade, menor ocorrência e severidade de pleurisia observada ao abate e menor ocorrência de *H. pleuropneumoniae* na cavidade nasal após a agressão, do que leitões originados de MNV. Porém, a vacinação, tanto das matrizes como dos leitões, não impediu a ocorrência de sinais clínicos, lesões e persistência da infecção. Esta persistência foi detectada pelo isolamento de *H. pleuropneumoniae* em um animal do Grupo B, na cavidade nasal, nove semanas após a inoculação. Ao abate, não se isolou, em nenhuma oportunidade o agente, sugerindo que a infecção tenha sido eliminada. Esta hipótese é corroborada pelo fato de que os títulos aglutinantes tenham se reduzido no transcurso do experimento, bem como o número de reatores positivos.

A ausência de efetividade observada entre os esquemas de vacinação testados nos leitões, originados de ambos os grupos de matrizes, e as diferenças observadas nos parâmetros avaliados entre leitões originados de MNV e MV indicaram que a imunidade passiva é de suma importância, para proteger leitões, até uma certa idade (no mínimo, entre 70 e 90 dias). Este fato é suportado pelas observações de Nielsen (1975), que foi incapaz de induzir doença clínica em leitões com idade entre três e oito semanas, originados de porcas imunes, e pelas observações epidemiológicas que indicam maior susceptibilidade à pleuropneumonia suína entre a 10ª e 14ª semana de vida (Mylrea et al. 1974, Davidson & King 1980 e Saunders et al. 1981). Evidência adicional, para a importância da imunidade passiva, reside no fato de que a mortalidade causada por *H. pleuropneumoniae*, entre os leitões originados de MV, ocorreu após a 16ª semana de vida, enquanto que, entre os leitões das MNV, a mesma ocorreu logo após a agressão. A importância da imunidade passiva no controle da pleuropneumonia também foi observada por Kielstein et al. (1982) e Mason et al. (1982). Estes autores conseguiram melhores resultados no controle de pleuropneumonia suína quando vacinaram, além dos leitões, os reprodutores. Kielstein et al. (1982) observaram que a vacinação apenas dos leitões era insuficiente. Neste experimento, observou-se resultados similares, uma vez que, em todos os parâmetros considerados, os Tratamentos D e E não diferiram entre si. Este achado contrasta com aqueles de Higgins et al. (1985) que encontraram proteção na utilização de vacinas apenas em leitões.

Os leitões originados do Tratamento B e D foram submetidos ao mesmo regime de vacinação. A única diferença residiu no fato de que os leitões do Grupo B originaram-se de MV e os da D, de MNV. Aqui, novamente, os resultados mostraram a importância da vacinação das matrizes, uma vez que os animais do Grupo B apresentaram uma ocorrência menor de *H. pleuropneumoniae*, na cavidade nasal, após uma semana de inoculação e menor índice de mortalidade. A menor ocorrência de *H.*

pleuropneumoniae na cavidade nasal, entre leitões originados de MV, sugere que uma imunidade passiva adequada pode reduzir a pressão infectiva ambiental, com a concomitante menor ocorrência de infecção e doença.

A falta de diferença entre os Tratamentos A, B e C sugere, também, que a imunidade passiva possa estar inibindo a expressão de uma imunidade ativa (Tizard 1977). Assim, estudos são necessários para estabelecer até quando a imunidade passiva persiste, para poder se estabelecer um esquema racional de vacinação dos leitões, associado com a vacinação das matrizes.

Os resultados sorológicos indicaram que os animais antes da agressão não haviam sofrido infecção por *H. pleuropneumoniae* sorotipo 5, e que a vacinação induz à produção de anticorpos.

Conclui-se, por este trabalho, que a vacinação das matrizes é essencial para proteger os leitões no período inicial de suas vidas e que os esquemas de vacinações, aqui aplicados aos leitões, não melhoram o nível de proteção conferido pela vacinação das matrizes apenas.

Agradecimentos. - A assistência técnica de Maria B.B. Fávero, Marni L.F. Ramenzoni e Mauro Alves Ribeiro.

REFERÊNCIAS

- Davidson J.N. & King J.M. 1980. An outbreak of *Haemophilus parahaemolyticus* pneumonia in growing pigs. *Cornell Vet.* 70(4): 360-364.
- Higgins R., Larivière S., Mittal K.R., Martineau C.P., Rausseau P. & Cameron J. 1985. Evaluation of a killed vaccine against porcine pleuropneumoniae due to *Haemophilus pleuropneumoniae*. *Can. Vet. J.* 26: 86-89.
- Kielstein P., Scholl W., Mirlé P., Michael M., Boesler M., Liesegang M. & Grünert G. 1982. Untersuchungen zur Wirksamkeit einer inaktivierten *Haemophilus-pleuromoniae* - Adsorbat-Vakzine in Schweinebeständen. *Monatsh. Vet. Med.* 37: 126-132.
- Little T.W.A. & Harding J.D.J. 1980. Interaction of *Haemophilus parahaemolyticus* and *Pasteurella multocida* in the respiratory tract of the pig. *Br. Vet. J.* 136(4): 371-383.
- Locatelli J.C., Machado A. & Silva A.S. 1981. Ocorrência de pleuropneumonia suína devido a *Haemophilus pleuropneumoniae*, p. 203. In: Anais do 2º Ciclo de Atualização em Medicina Veterinária, Lages. (Resumo)
- Mason R.W., McKay R.W. & Corbould A. 1982. Field testing of a killed *Haemophilus parahaemolyticus* vaccine in pigs. *Aust. Vet. J.* 58(3): 108-110.
- Mylrea P.J., Fraser G., MacQuenn P. & Lambourne D.A. 1974. Pleuropneumonia in pigs caused by *Haemophilus parahaemolyticus*. *Aust. Vet. J.* 50(6): 255-259.
- Nakai T., Sawata A. & Kume K. 1985. Duration of the complement-fixation antibodies induced in pigs by *Haemophilus pleuropneumoniae* vaccine. *Jap. J. Vet. Sci.* 47: 503-506.
- Nielsen R. 1975. Colostral transfer of immunity to *Haemophilus parahaemolyticus* in pigs. *Nord. Veterinaermed.* 27(6): 319-328.
- Nielsen R. 1979. *Haemophilus parahaemolyticus* serotypes pathogenicity and cross immuninity. *Nord. Vet. Med.* 31: 407-417.
- Nielsen R. 1984. *Haemophilus pleuropneumoniae* serotypes. Cross protection experiments. *Nord. Vet. Med.* 36: 221-234.
- Piffer I.A., Brito M.A.V.P., Sobestiansky J. & Wentz I. 1982. Pleuropneumonia suína. I. Alguns aspectos epidemiológicos da doença em nosso meio, p. 45. In: Anais 18º Congr. Bras. Med. Vet., Camboriú, SC.
- Piffer I.A., Brito M.A.V.P., Brito J.R.F. & Barcellos D.E.S.N. 1983. Sorotipos de *Haemophilus pleuropneumoniae* isolados de suínos em Santa Catarina e Rio Grande do Sul, p. 239-260. In: Anais do 2º

- Simpósio do Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves, 2º Simpósio Catarinense de Sanidade, Concórdia, SC.
- Piffer I.A., Botovchenco A. & Mores N. 1985. Teste de soroaglutinação em microtitulação com 2-mercaptoetanol para o diagnóstico de infecção por *Haemophilus pleuropneumoniae*, p. 99-100. In: Anais do 1º Congresso Latino de Veterinários Especialistas em Suínos, Rio de Janeiro.
- Protas J.F. da S., Sobestiansky J., Wentz I. & Piffer I.A. 1985. Custo de um surto de pleuropneumonia suína. *Pesq. Agropec. Bras.* 20: 241-244.
- Saunders J.R., Orborne A.D. & Sebunya T.K. 1981. Pneumonia in Saskatchewan swine: abottair incidence of intrathoracic lesions in pigs from a herd infected with *Haemophilus pleuropneumoniae* and from other herds. *Can. Vet. J.* 22(8): 244-247.
- Tizard I.R. 1977. An introduction to veterinary immunology. W.B. Saunders, Philadelphia.

INTOXICAÇÃO POR *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) EM BOVINOS NO BRASIL¹

CARLOS HUBINGER TOKARNIA² e JÜRGEN DÖBEREINER³

ABSTRACT. - Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1986 [Poisoning of cattle by *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) in Brazil.] Intoxicação por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em bovinos no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 6(3):73,92. Depto Nutrição Animal, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, and Embrapa-UAPNPSA, Seropédica, Rio de Janeiro 23851, Brazil.

Clinical and pathological data are given on the experimental poisoning of cattle by *Palicourea marcgravii* St. Hil., a shrub of the Rubiaceae family, and the most important toxic plant for cattle in Brazil. Fresh leaves were administered orally in single doses to 30 animals 28 of which died; the dried leaves were given either as a single dose to 11 animals four of which died, or, to determine whether the plant has an accumulative toxic effect, in repeated doses of fractions of the lethal dose to five animals three of which died. Also described are clinical and pathological data of cases diagnosed as natural poisoning of cattle by *P. marcgravii*. These experimental and natural poisonings were studied in different geographical regions of Brazil, with the exception of the South, between 1957 and 1985. The experiments confirmed that *P. marcgravii* is highly toxic for cattle; doses from 0.6 g/kg of body weight on of the fresh leaves always caused death. The dried leaves were also toxic, but there was great variation in toxicity. In some experiments the dried leaves retained their toxicity, while in others it was greatly reduced. The cause of this variation was not established. It was shown that the plant has an accumulative toxic effect which was evident with daily quantities of 1/5 of the lethal dose, and still noticeable with daily doses of 1/10 of the lethal dose. These same doses given weekly, or the administration of smaller daily doses did not cause symptoms. Symptoms and death of the bovines could be caused or precipitated by exercise, but the majority of the animals in these experiments died without being exercised. Single doses of fresh or dried leaves of *P. marcgravii* caused the clinical picture of "sudden death", a poisoning of peracute course lasting generally from 1 to 10 minutes, up to a maximum of 85 minutes. Of the three animals that died after repeated administrations of the plant, one showed clear symptoms for only 1 minute, while the other two had symptoms which lasted for 12 and 55 hours. In all experiments symptoms were characterized mainly by: positive venous pulse, instability, muscular tremors, lying down or falling into a sternal-abdominal or lateral position, tachypnea, peddling movements with the legs, opisthotonus, firm closing of the eyelids, bellowing and death. Post-mortem examination revealed no lesions in almost half of the animals, and only few and inconsistent lesions consisting mainly of hemorrhages in the epicardium and congestion of the lungs in the others. The few histopathological changes that were found were concentrated mainly in the heart, kidney and liver. The most characteristic lesion, a hydropic-vacuolar degeneration of the epithelial cells of the distal convoluted tubules in the kidney, was seen in 17 of the 28 bovines (60%) which died after eating the fresh leaves, in none of the four animals which died after ingesting a single dose of the dried leaves, and in two of the three which died after repeated doses of the dried leaves. It is stressed that the most important feature for the diagnosis of *P. marcgravii* poisoning is the symptomatology of "sudden death", and, when present, the microscopic lesion in the kidney.

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

¹ Aceito para publicação em 20 de maio de 1986.

² Departamento de Nutrição Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23851; bolsista do CNPq (30.5010/76).

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

SINOPSE.- São fornecidos os dados clínico-patológicos a respeito da intoxicação experimental em bovinos por *Palicourea marcgravii*, arbusto da família Rubiaceae, a planta tóxica mais importante para bovinos no Brasil. Foram realizados experimentos com administrações únicas das folhas frescas (em 30

bovinos, dos quais 28 morreram) e das folhas dessecadas (em 11 bovinos, dos quais 4 morreram) e com administrações repetidas de doses subletais das folhas dessecadas para verificar se a planta possui efeito acumulativo (em 5 bovinos, dos quais 3 morreram). São também apresentados os dados clínico-patológicos de casos diagnosticados de intoxicação espontânea em bovinos por *P. marcgravii*. Esses estudos, tanto da intoxicação experimental como da espontânea, foram realizados nas diversas regiões do Brasil, exceto a Sul, no período de 1957 a 1985, confirmando-se que *P. marcgravii* é altamente tóxica para bovinos. Doses a partir de 0,6 g/kg das folhas frescas causaram sempre a morte dos bovinos. Em relação às folhas dessecadas, houve grande variação quanto à toxidez, que tanto podia conservar-se integralmente como reduzir-se bastante, não se estabelecendo a causa dessa variação. A planta demonstrou possuir efeito acumulativo quando administrada diariamente; esse efeito era acentuado com doses de 1/5 da dose letal e se fez sentir ainda nas dosagens diárias de 1/10 da dose letal. As mesmas doses, dadas semanalmente, ou doses menores diárias, não causaram sintomas. Estes, e a morte dos bovinos, puderam ser provocados ou precipitados pelo exercício, porém a maioria dos bovinos morreu sem ter sido exercitada. A ingestão de *P. marcgravii* em dose única da planta fresca ou dessecada causou o quadro clínico de "morte súbita", isto é, intoxicação de evolução superaguda, geralmente de 1 a 10 minutos, no máximo até 85 minutos. Um dos 3 bovinos que morreram após administrações repetidas da planta mostrou sintomas nítidos durante somente 1 minuto, enquanto nos outros dois a evolução durou 12 e 55 horas. Os sintomas, em todos os experimentos, caracterizaram-se principalmente por pulso venoso positivo, instabilidade, tremores musculares, o animal deitava-se ou caía em decúbito esterno-abdominal e lateral, taquipnéia, movimentos de pedalagem, cabeça em opistótono, cerração das pálpebras, berros e morte. À necropsia, em todos os experimentos, chamou a atenção que em quase metade dos bovinos (17/35) não foram encontradas alterações, e nos restantes as lesões foram poucas e inconsistentes, constando principalmente em hemorragias no epicárdio e congestão dos pulmões. Os achados histopatológicos foram escassos em todos os experimentos; foram encontradas alterações principalmente no coração, rim e fígado. As lesões que mais chamaram a atenção foram verificadas no rim, sob a forma de degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos contornados distais, verificada em 17 dos 28 bovinos (60%) que morreram pela ingestão das folhas frescas, mas ausentes nos 4 bovinos que morreram pela ingestão de doses únicas das folhas dessecadas e em 2 dos 3 que morreram pela ingestão repetida das folhas dessecadas. Em relação ao diagnóstico da intoxicação espontânea por *P. marcgravii*, é salientado que se deve dar importância especial à sintomatologia, a "morte súbita"; a lesão histológica renal, quando presente, é de grande valor.

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

INTRODUÇÃO

A planta tóxica de interesse agropecuário mais importante do Brasil é *Palicourea marcgravii* St. Hil., arbusto da família

Rubiaceae, conhecida pelos nomes populares "cafezinho", "café-bravo", "erva-café", "erva-de-rato", "roxa", "roxinha", "roxona" e "vick" (Fig. 1 - 6). De acordo com estimativas, *P. marcgravii* é atualmente responsável no Brasil por 50% de todas as mortes em bovinos causadas por plantas tóxicas (Fig. 7). Também através dos tempos, desde a descoberta do Brasil, tem sido a planta tóxica que tem causado mais mortes em bovinos. Na Região Amazônica, onde, estimativamente, morre a metade dos bovinos que são vitimados por plantas tóxicas no Brasil, ela é responsável por 80% de todas essas perdas, constituindo-se, assim, na causa mais importante de mortes de bovinos adultos nessa extensa região (Tokarnia et al. 1979).

A importância de *P. marcgravii* como planta tóxica deve-se a quatro razões: 1) é planta de ampla distribuição no Brasil, ocorrendo em todas as regiões naturais, exceto na Região Sul e no Mato Grosso do Sul; 2) é planta de boa palatabilidade; 3) é dotada de elevada toxidez (dose letal baixa) e 4) possui efeito acumulativo.

P. marcgravii foi a primeira planta tóxica brasileira estudada, tendo sido feitos os primeiros estudos por Hoehne (1932) e Pacheco & Carneiro (1932). Enquanto Hoehne relata aspectos botânicos da planta, Pacheco e Carneiro apresentam seus estudos experimentais, inclusive em 4 bovinos, comprovando dessa maneira a toxidez da planta para essa espécie animal. Muitos anos antes, entretanto, já se comentava a toxidez de *P. marcgravii* (Saint-Hilaire 1824). Também foi a primeira planta tóxica investigada por nós, ao estudarmos a etiologia de mortandades em bovinos ocorridas no Vale do Itapicuru, Maranhão (Döbereiner & Tokarnia 1959). Camargo (1962) responsabilizou *P. marcgravii* var. *pubescens*, no Vale do Paraíba, Estado de São Paulo, por mortes em bovinos, provocando experimentalmente a morte de 2 bovinos. Posteriormente, Costa et al. (1984) relataram os achados de necropsia e histopatológicos em 8 bovinos intoxicados experimentalmente por eles na Universidade Federal de Minas Gerais.

Durante nossas investigações sobre doenças causadas por plantas tóxicas em animais domésticos, realizamos, após 1959, estudos experimentais adicionais sobre a toxidez de *P. marcgravii* em bovinos. O presente trabalho, com a apresentação dos dados de todos os nossos estudos experimentais sobre a intoxicação em bovinos por *P. marcgravii*, bem como dos casos espontâneos de intoxicação por essa planta por nós diagnosticados, tem por finalidade complementar os conhecimentos sobre a sua toxidez, visto que os dados publicados sobre esses aspectos de *P. marcgravii* são desproporcionalmente escassos em relação à sua grande importância em nosso País.

Este trabalho não inclui estudos sobre o princípio tóxico, tarefa essa que está sendo desenvolvida por outros grupos de pesquisadores, que trabalham no âmbito da bioquímica.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho é constituído de duas partes. Em primeiro lugar são apresentados os nossos estudos experimentais com *Palicourea marcgravii* inicialmente a intoxicação com as folhas frescas, em administrações

únicas; em seguida, a intoxicação com as folhas dessecadas⁴, em administrações únicas; e finalmente, também com a planta dessecada, mas em administrações repetidas, buscando detectar efeito acumulativo. A planta era administrada em dosagens prefixadas, por via oral, isto é, colocada manualmente, sempre em pequena quantidade de cada vez, dentro da boca dos animais, que a mastigavam e engoliam. Em seguida à administração os animais eram observados durante períodos variáveis, examinados clinicamente, e ocasionalmente exercitados. Em casos de morte, realizava-se a necropsia complementada por exames histopatológicos. Fragmentos de fígado e rim que, nos exames dos cortes de parafina corados pela hematoxilina-eosina, apresentavam vacuolizações, foram em grande parte dos animais, cortados em micrótomo de congelação e tratados pelo Sudan III.

Em segundo lugar são apresentados os dados sobre os casos que diagnosticamos como intoxicação espontânea por *P. marcgravii* em bovinos. Esses diagnósticos se basearam no histórico obtido referente à ocorrência das mortes, na realização de necropsias, complementadas por exames histopatológicos, e na inspeção dos locais onde os animais haviam passado.

RESULTADOS

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL

Os principais dados dos casos de intoxicação experimental com as folhas frescas de *Palicourea marcgravii* em bovinos, em doses únicas, constam dos Quadros 1 e 2; os casos de intoxicação experimental com as folhas dessecadas, em doses únicas, constam dos Quadros 3 e 4, e com as folhas dessecadas, em doses repetidas, dos Quadros 5 e 6. Dados sobre um experimento com as inflorescências frescas e de outro com os frutos frescos encontram-se em anexo aos Quadros 1 e 2. Os dados desses dois experimentos não foram incluídos nos diversos tópicos que se seguem.

Doses Administradas

Experimentos de administrações de doses únicas

Folhas frescas (Quadro 1) — 30 bovinos, dos quais 28 morreram. A dose mais baixa que causou a morte de bovino foi 0,4 g/kg (Bov. 3773) e a mais alta que não causou morte foi 0,5 g/kg (Bov. 3978). Doses a partir de 0,6 g/kg causaram sempre a morte dos bovinos.

Folhas dessecadas (Quadro 3) — 11 bovinos, dos quais 4 morreram. A dose mais baixa que causou a morte de bovino foi 0,29 g/kg (Bov. 2194) e a mais alta que não causou morte foi 2 g/kg (Bov. 4349).

Experimentos de administrações repetidas (Quadro 5) — 5 bovinos, dos quais 3 morreram. Foram feitas duas séries de experimentos, todos realizados com as folhas dessecadas. Em uma delas os animais (Bov. 4195, 4197 e 4184) receberam doses correspondentes a 1/5, 1/10 e 1/20 da dose letal, com intervalos de uma semana, durante 25, 30 e 30 semanas respectivamente, ingerindo, assim, o equivalente a várias doses letais.

⁴ A secagem das folhas sempre era feita à sombra, de preferência em lugares ventilados, e uma vez secas, as folhas eram guardadas em sacos de pano, na sombra e em temperatura do ambiente. A relação em peso entre planta dessecada e planta fresca foi de 1:3.

Como não adoeceram, os 2 bovinos que recebiam semanalmente 1/5 e 1/10 da dose letal, passaram a receber as mesmas doses diariamente. Um deles (Bov. 4195) morreu após a 14ª administração diária de 1/5 da dose letal; o outro (Bov. 4197), que recebeu ao todo 54 doses diárias de 1/10 da dose letal, só mostrou sintomas leves durante 2 dias, quando exercitado. O primeiro desses dois animais havia recebido, entre as administrações semanais e as doses diárias, em duas ocasiões, com intervalos de 1 a 2 semanas, 1 dose letal da planta, adoecendo da primeira vez levemente, e da segunda vez, gravemente. Na segunda série, foram repetidas as administrações de 1/5 e 1/10 da dose letal por dia, em dois outros bovinos, dos quais um (Bov. 4203) morreu após a 5ª administração de 1/5 da dose letal, e o outro (Bov. 4204), após a 50ª administração de 1/10 da dose letal.

Influência do Exercício

A maioria dos bovinos experimentais morreu sem ter sido exercitada. Em diversos animais movimentados, porém, o exercício provocou ou precipitou sintomas (Fig. 8). (Bov. 4147, 4148 e 4190, que ingeriram doses únicas da planta dessecada e Bov. 4195, 4197 e em 18.3.79 Bov. 4203, que ingeriram doses repetidas da planta dessecada) ou a morte (Bov. 508, 3434, 3583, 3982 e 4174, que ingeriram doses únicas da planta fresca, e Bov. 4192, que ingeriu dose única da planta dessecada).

Evolução Clínica

Nos experimentos de administrações únicas das folhas frescas de *P. marcgravii*, todos os 28 animais que adoeceram, entre os 30 usados, morreram. Quatorze deles foram encontrados mortos, e nos outros 14, a evolução foi de 1 a 10 min. em 10, e de 19 a 85 minutos nos 4 restantes. Na avaliação desses prazos foram considerados somente sintomas nítidos. Alguns animais mostraram anteriormente sintomas menos evidentes, como não querer andar quando tocados (Bov. 3445), taquipnéia (Bov. 505 e 3433), deitar-se em posição esterno-abdominal (Bov. 3433, 3445, 4087 e 4174), urinar frequentemente (Bov. 3445 e 4174). Esses sintomas não foram incluídos na contagem dos prazos de evolução. Dois animais não mostrar um sintoma, mesmo quando tocados (Bov. 3978 e 3980). Nos experimentos de administrações únicas das folhas dessecadas de *P. marcgravii* morreram 4 bovinos dos 8 utilizados. Um deles foi encontrado morto (Bov. 2194). Nos 3 bovinos restantes a evolução foi de 1 a 22 minutos (Bov. 4149, 4192 e 4198). Três animais adicionais mostraram sintomas, quando tocados, mas se recuperaram (Bov. 4147, 4148 e 4190); um quarto nunca mostrou sintomas (Bov. 4200). Nos experimentos de administrações repetidas das folhas dessecadas morreram 3 dos 5 animais empregados. Em relação à evolução dos sintomas da vez que evoluíram para a morte, um (Bov. 4195) mostrou sintomas durante um período de aprox. 55 horas, mas antes, durante 5 dias, comia menos e estava com as fezes ressequidas, outro (Bov. 4203) teve sintomas durante aprox. 12 horas, e o outro (Bov. 4204) teve sintomas acentuados durante 1 minuto, mas

antes, já durante aprox. 2 horas, teve sintomas menos evidentes, como pulso venoso positivo, quando tocado deitava, e dispnéia. Um desses bovinos (Bov. 4195) na primeira vez que recebeu 1 dose letal da planta, adoeceu levemente quando tocado, e na segunda vez, mostrou sintomas acentuados durante 1 dia, mas no dia seguinte só mostrou andar duro quando tocado, e no terceiro dia não mostrou mais sintomas. Dos animais que não morreram, um só mostrou sintomas leves quando tocado (Bov. 4197), e o outro nunca mostrou sintomas (Bov. 4184).

Sintomas de Intoxicação

Os sintomas observados nos experimentos de administrações únicas (folhas frescas e dessecadas) foram, tanto nos animais que morreram como nos que se recuperaram, na seqüência em que apareceram, relutância em andar, urinar frequentemente e aos poucos, pulso venoso positivo, desequilíbrio, instabilidade, tremores musculares, deitar-se ou cair (Fig. 8) em decúbito esterno-abdominal, queda em decúbito lateral passando ou não pelo decúbito esterno-abdominal, taquipnéia, movimentos de pedalagem (Fig. 9), cabeça em opistôtono, cerração forte das pálpebras, berros, e convulsão final tônica (Fig. 10).

Nos experimentos de administrações repetidas que finalizaram com a morte, um animal (Bov. 4195) mostrou dispnéia, moleza, anorexia, ficava a maior parte do dia em decúbito esterno-abdominal, tinha pulso venoso positivo, sopro cardíaco, finalmente de repente perdeu o equilíbrio, caiu e morreu. Outro animal (Bov. 4203) teve anorexia, ficava a maior parte do tempo em posição esterno-abdominal, tinha instabilidade quando em pé, tinha andar com passos curtos, pulso venoso positivo, leves tremores musculares, e depois foi encontrado morto. O terceiro animal (Bov. 4204) tinha pulso venoso positivo, dispnéia, ficou em decúbito esterno-abdominal, espumando, depois deitou de lado, berrou algumas vezes e morreu. Nos experimentos em que houve recuperação (Bov. 4195 e 4197), os sintomas foram semelhantes aos descritos acima para os experimentos de administrações únicas.

Achados de Necropsia

Em 13 dos 28 bovinos que morreram pela administração da planta fresca não foram constatadas alterações (Bov. 505, 866, 880, 955, 3433, 3583, 3769, 3773, 3973, 3982, 4067, 4087 e 4272). Nos animais restantes as lesões encontradas foram em geral leves e não características, e consistiram em congestão pulmonar (Bov. 500, 508, 956, 3442 e 4174), hepática (Bov. 500 e 956), esplênica (Bov. 956), renal (Bov. 500 e 956), das meninges (Bov. 508), da mucosa do intestino delgado (Bov. 843 e 4182) e de linfonodos mesentéricos (Bov. 4174), em presença de hemorragias (petéquias) no epicárdio (Bov. 843, 953, 3972, 3983 e 4271), na mucosa da traquéia (Bov. 508), do coagulador (Bov. 4182) e do intestino delgado (Bov. 843 e 3972), e em edema pulmonar (Bov. 4174, 4176 e 4182), da inserção da vesícula biliar (Bov. 3432, 3434, 3442 e 3445) e de toda a parede da vesícula biliar (Bov. 4174 e 4271). Em 3 dos

4 bovinos que morreram pela administração de doses únicas da planta dessecada não foram constatadas alterações; no quarto (Bov. 2194) foi constatada pequena quantidade de petéquias no epicárdio. Em 1 dos 3 animais que morreram pela administração de doses repetidas da planta dessecada (Bov. 4203) não foram encontradas alterações; em outro (Bov. 4195) foram encontrados edema da parede da vesícula biliar e das pregas do coagulador, e o fígado estava mais claro na superfície e ao corte, e no último (Bov. 4204) havia edema de pulmão, da parede da vesícula biliar e da serosa do duodeno, e o fígado ao corte também era mais claro.

Alterações Histopatológicas

Os órgãos afetados foram principalmente coração, fígado e rim. Nos experimentos de administrações únicas com as folhas frescas foi constatado, no coração, edema intracelular, sob forma de focos, em que as fibras cardíacas estavam vacuolizadas (Fig. 11 e 12), em 5 dos 28 casos; necrose de fibras cardíacas, individuais ou em pequenos grupos, caracterizada por forte eosinofilia do seu citoplasma com perda de sua estriação, e núcleos picnóticos, foi encontrada em 3 casos; além dessas alterações foram encontradas áreas de afastamento entre feixes de fibras cardíacas em 9 casos, na maioria deles simultaneamente com infiltrados por células redondas pequenas, também em 9 casos. No fígado foi constatada tumefação dos hepatócitos em 5 casos, vacuolização do citoplasma dos hepatócitos em 13 casos (Sudan III sempre negativo com exceção do Bov. 3445 em que a vacuolização na periferia do lóbulo deu reação positiva; no Bov. 4087 além da vacuolização centrolobular negativa pelo Sudan III, foi verificada ainda a presença de granulozinhos finos sob forma de poeira, positiva pelo Sudan III, também no centro do lóbulo), necrose, sob forma de o citoplasma dos hepatócitos corar-se mais intensamente pela eosina e a cromatina nuclear estar condensada, em 1 caso, congestão em 4 casos, dissociação dos cordões hepáticos em 8 casos, edema dos espaços de Disse em 3 casos e presença de esferas eosinofílicas em hepatócitos em 1 caso. No rim foi verificada degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contornados distais (Fig. 15) em 17 casos (Sudan III sempre negativo), lesão semelhante (degeneração hidrópico-vacuolar até lise) em túbulos na parte externa da medular (alça de Henle) (Fig. 18) em 4 casos (Sandan III também sempre negativo) e degeneração albuminosa-granular-vesicular na cortical em 3 casos.

Nos experimentos de administrações únicas com as folhas dessecadas foi constatado, no coração, edema intracelular, em que as fibras cardíacas estavam vacuolizadas, em 2 dos 4 casos, e afastamento entre feixes de fibras cardíacas, sempre simultaneamente com infiltrados de células redondas pequenas, em 3 casos. No fígado foi verificada vacuolização dos hepatócitos em 1 caso (Sudan III negativo), necrose, sob forma de o citoplasma dos hepatócitos corar-se mais intensamente pela eosina e a cromatina nuclear estar condensada, em 1 caso, e congestão em 1 caso. No rim não foram verificadas alterações em nenhum caso.

Nos experimentos de administrações repetidas com as fo-



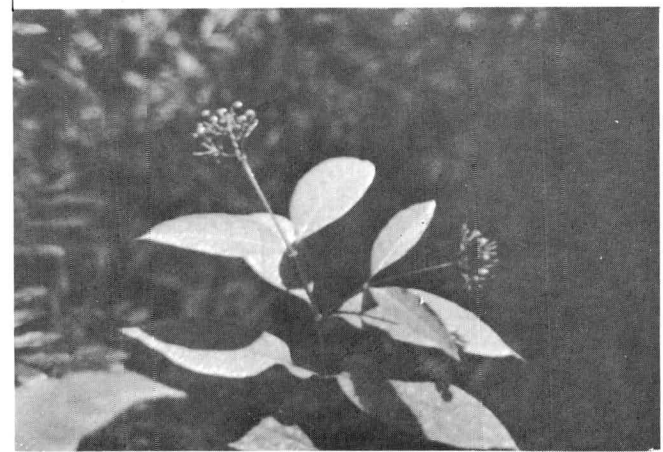
1



2



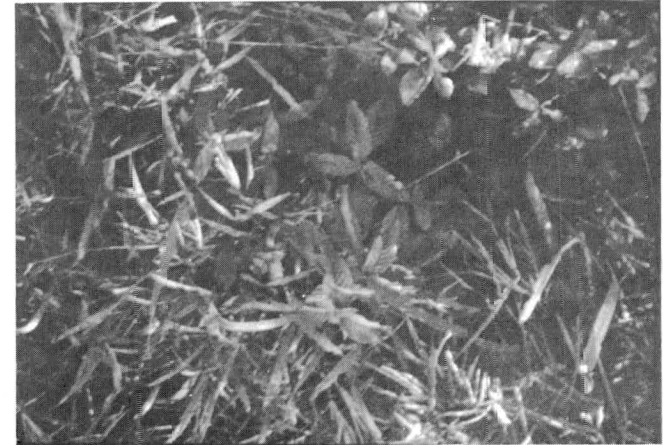
3



4



5



6

Fig. 1. *Palicourea marcgravii* em floração, em pasto com capoeira no Baixo Amazonas, no Município de Alenquer, Pará.

Fig. 2. *P. marcgravii* com inflorescências, no mês de dezembro, em região de pequenas matas beirando os pastos, onde havia históricos de "morte súbita" em bovinos. Mun. Ipanema, Minas Gerais.

Fig. 3. Inflorescência de cor violácea, alaranjada na base, de *P. marcgravii* da figura anterior.

Fig. 4. *P. marcgravii* em frutificação. Mun. Vassouras, Rio de Janeiro.

Fig. 5. Arbusto de *P. marcgravii* aparado pelos bovinos que entraram na mata e dos quais, segundo o histórico, sucumbiram 20 com sintomas de "morte súbita". Mun. Barra do Bugres, Mato Grosso.

Fig. 6. Brotação de *P. marcgravii* em pasto de capim-colontão, recentemente formado após derrubada e queima da mata e onde a planta desaparecerá dentro de 2 a 3 anos sob a ação dos raios solares diretos, se não houver formação de capoeira. Na sombra *P. marcgravii* rebrota vigorosamente, constituindo perigo aos bovinos que a ingerem indiscriminadamente. Mun. Rio Branco, Mato Grosso.

lhas dessecadas foi constatado, no coração, edema intracelular, em que as fibras cardíacas estavam vacuolizadas, em 2 dos 3 casos, áreas de afastamento entre feixes de fibras cardíacas,

simultaneamente com infiltrados de células redondas, em 2 casos. No fígado foi verificada vacuolização dos hepatócitos em 4 casos (Sudan III sempre negativo), necrose, sob forma de

Quadro 1. Experimentos realizados em bovinos com as folhas frescas de *Palicourea marcgravi*, doses únicas

Bovino		Registro		Planta		Administração		Sintomas	Tempo entre o início da administração da planta e a morte	Tempo entre o início do exercício e começo dos sintomas	Evolução	Achados de necropsia	
Nº (mat. reg. SAP)	Peso kg	Dób/Tok	Herbário	Coleta Local	Data	Data	Quant. g						Dose g/kg
500 (11637)	Aprox. 120	508	-	Mun. Rosário, Faz. Quebravido, MA	22.5.57	23.5.57 (9:00-16:00h)	650	5,41	Em 23.5.57 às 19:30h encontrado morto (às 18:00h sem sintomas)	>9h <10h30min	-	?	Pulmão, fígado e rim com congestão
505 (11638)	Aprox. 300	-	-	Mun. Rosário, Faz. Vale-quem-tem, MA	23.5.57	24.5.57 (9:30h)	2000	6,6	Em 25.5.57 às 9:00h ^a deitado com respiração acelerada; às 10:15h deitou-se para um lado e morreu logo em seguida, às 10:16h	24h45 min	-	1 min	Sem alterações
508 (11641)	Aprox. 120	-	-	"	24.5.57	25.5.57 (10:00h)	400	3,3	Em 26.5.57 às 8:45h começou-se a tocar o animal; às 8:50h balançou ligeiramente o trem posterior; às 8:55h deitou-se e forçado a levantar-se, apresentou tremores musculares em todo o corpo; deitou-se de novo, de lado; com respiração difícil, gemendo; às 8:57h morreu	23h57 min	5 min	7 min	Pulmão com pequenas áreas de congestão; traquéia com algumas sufusões e petéquias na sua parte superior; meninges congestas
843 (14129)	Aprox. 90	-	-	Mun. Trajano de Moraes, Faz. São Geraldo, RJ	1.8.61	3.8.61 (14:00h)	280	3,1	Em 4.8.61 às 8:00h foi encontrado morto, inchado e com rigidez cadavérica completa	<18h	-	-	Epicárdio com petéquias, mucosa do intestino delgado numa extensão de aprox. 10 cm com congestão e petéquias
866 (14609)	154	213	-	Mun. Barra Mansa, Faz. Ermo, RJ	20.3.62	21.3.62 (11:05-11:30h)	325	2,1	Em 21.3.62 às 15:45h fômos avisados que o animal estava morrendo. As 15:50h quando chegamos, já estava morto; fômos informados do seguinte: o animal estava em posição esterno-abdominal; começou a berrar, botou a cabeça para o lado, caiu em decúbito lateral, bateu com a cabeça no chão diversas vezes, esticou-se e morreu	4h45 min	-	5 min	Sem alterações
880 (14806)	240	-	-	Mun. São Fidelis, Sítio Paraíso, R	6.7.62	7.7.62 (9:30h)	500	2,1	Segundo informação do vaqueiro, morreu no dia 7.7.62 às 13:30h; necr. às 16:00h	4h	-	?	Sem alterações
953 (15284)	Aprox. 40	-	-	Mun. Rezende, Faz. Valparaíso, RJ	11.6.63	11.6.63 (14:00h)	600	15	Em 12.6.63 às 7:00h foi encontrado morto; morreu aprox. 5h antes	Aprox. 12h	-	?	Epicárdio com pequenas hemorragias
955 (15205)	Aprox. 70	-	-	"	"	12.6.63 (17:00h)	100	1,7	Em 13.6.63 às 7:30h foi encontrado morto; morreu aprox. às 6:00h	Aprox. 13h	-	?	Sem alterações
956 (12286)	70	-	-	"	"	12.6.63 (17:30h)	35	0,5	Em 13.6.63 às 16:00h foi encontrado morto; morreu aprox. às 15:30h	Aprox. 22h	-	?	Fígado, baço e rins com congestão
3432 (20972)	50	918	-	Mun. Luciara, Faz. Presidente, MT	27.1.73	27.1.73 (9:45-10:05h)	150	3,0	Em 27.1.73 às 13:20h estava deitado sobre o esterno, quando caiu de lado; com taquicardia; às 13:25h morreu fazendo alguns movimentos de pedalagem	3h40 min	-	5 min	Edema moderado na inserção da vesícula biliar
3433 (20973)	42	"	-	"	"	27.1.73 (10:15-10:30h)	50	1,2	Em 27.1.73 às 15:30h estava deitado sobre o esterno com taquipnéia; às 16:20h caiu de lado com berros e leves convulsões, movimentos inspiratórios abruptos e espaçados; às 16:22h estava morto	6h07 min	-	2 min	Sem alterações
3434 (20974)	55	"	-	"	"	27.1.73 (10:30-10:50h)	100	1,8	Em 27.1.73 às 18:45h foi tocado; às 18:46h não queria mais andar, caiu sobre o esterno e depois de lado; às 18:50h levantou-se, mas poucos minutos depois deitou-se sobre o esterno, com polipnéia; às 19:05h caiu de lado e morreu com movimentos de respiração forçados e alguns berros	8h35 min	1 min	19 min	Leve edema na inserção da vesícula biliar
3442 (21053)	90	926	INPA 69755	Mun. Barra do Garças, Faz. Nova Vienna, MT	25.3.73	25.3.73 (16:20-16:30h)	70	0,77	Em 26.3.73 às 6:30h foi encontrado morto	Aprox. 10h	-	?	Pulmão com congestão moderada; edema gelatinoso na inserção da vesícula biliar
3445 (21055)	55	-	-	"	"	26.3.73 (8:20-8:30h)	50	1,0	Em 26.3.73 às 13:30h foi tocado, mas parou logo. Após 5 min. deitou-se em posição esternal; às 13:50h levantou-se e urinou diversas vezes; às 15:10h caiu e fez movimentos de pedalagem, berrou e morreu	6h50 min	-	2 min	Leve edema gelatinoso na inserção da vesícula biliar
3583 (22034)	217	1136	INPA 56887	INPA, Manaus, AM	28.5.76	29.5.76 (14:00-14:15h)	434	2	Em 29.5.76 às 22:00-22:05h quando tocado correu bem; às 22:35h foi tocado durante 3 minutos; às 22:38h estava em pé muito desequilibrado e com fortes tremores musculares; caiu na frente, logo em seguida com a trazeira; ficou logo em decúbito lateral; com respiração difícil, respiração ocasional; morreu às 22:45h	8h45 min	3 min	7 min	Sem alterações
3769 (21895)	93	-	-	Mun. Barra do Bugres, Faz. Pecuaema, MT	16.7.75	16.7.75 (15:35-15:55h)	55,8	0,6	Em 17.7.75 às 14:30h foi encontrado morto, ainda morno	<22h57min	-	?	Sem alterações
3773 (21896)	90	-	-	"	"	16.7.75 (16:12-16:29h)	36	0,4	Em 17.7.75 às 15:40h foi encontrado morto, ainda quente	<23h28min	-	?	Sem alterações
3972 (falta)	120	1124	-	Mun. Porto Velho, Faz. Tokilândia, RO	17.5.76	17.5.76 (18:40-19:00h)	240	2	Em 18.5.76 às 6:30h foi encontrado morto; deve ter morrido aprox. às 24h	Aprox. 5h20 min	-	?	No epicárdio, acompanhando o sulco coronário longitudinal, algumas petéquias; mucosa do intestino delgado com algumas petéquias
3973 (22051)	85	1133	-	Mun. Porto Velho, Faz. Pé de Canga, RO	22.5.76	23.5.76 (19:10-19:35h)	445	5	Em 24.5.76 amanheceu morto; deve ter morrido às 5:00h; necr. às 8:00h	Aprox. 10h	-	?	Sem alterações
3978	90	1133	-	"	"	22.5.76 (18:15h)	45	0,5	Em 23.5.76 foi tocado das 13:35-13:45h, sem sintomas; em 24.5.76 foi tocado das 10:15-10:20h, sem sintomas	-	-	-	-

Quadro 1. Experimentos realizados em bovinos com as folhas frescas de *Palicourea marcgravii*, doses únicas (Continuação)

Bovino		Registro		Planta		Administração		Sintomas	Tempo entre o início da administração da planta e a morte	Tempo entre o início do exercício e começo dos sintomas	Evolução	Achados de necropsia	
Nº (mat. reg. SAP)	Peso kg	Dób/Tok	Herbário	Coleta Local	Data	Data	Quant. g						Dose g/kg
3982 (22053)	80	-	-	Mun. Porto Velho, Faz. Maruins, Vila Tabajara, RO	19.5.76	20.5.76 (8:40h)	160	2	Em 20.5.76 às 15:00h foi tocado uns 50 metros; às *15:01h caiu em posição externo-abdominal, logo em seguida ficando em decúbito lateral, com a cabeça em opistótono, com tremores musculares na região da omoplata e glútea; cerrou as pálpebras; às 15:07h se levantou, com andar cambaleante, tremores musculares; ficou em pé, demonstrando instabilidade, com períodos de tremores musculares, que às 15:40h se tornaram fortes, o animal caindo de lado, fazendo fortes movimentos de pedagem; cabeça em opistótono, respiração ofegante; cerrou as pálpebras, relaxou os membros, e às 15:45h estava morto	6h05 min	1 min	44 min	Sem alterações
3983 (22054)	75	1133	-	Mun. Porto Velho, Faz. Tokilândia, RO	22.5.76	23.5.76 (14:45-15:00h)	150	2	Em 24.5.76 amanheceu morto; deve ter morrido em 23.5.76, aprox. às 23:00h	Aprox. 8h	-	?	No epicárdio poucas petéquias
4067 (22139)	270	1163	INPA 58783	Mun. Autazes, diversas fazendas, AM	24.7.76	26.7.76 (7:00-7:30h)	540	2	Em 26.7.76 às 13:15h sem sintomas, às *13:30h foi encontrado caído em decúbito lateral, com muito leves movimentos de pedagem; durante os 18min, seguintes foi colocado em posição esternal por 5 vezes; da primeira vez levantou-se quase totalmente, teve tremores em todo corpo, e logo caiu, ficando em decúbito lateral, fazendo fortes movimentos de pedagem; das outras vezes também caiu em decúbito lateral, fazendo fortes movimentos de pedagem, esticando finalmente os membros, por fim cerrou fortemente as pálpebras, abriu a boca, deu uns berros não muito fortes e às 13:49h morreu	6h49 min	-	>19 min <34 min	Sem alterações
4087 (22165)	Aprox. 70	-	-	Mun. Barreirinha, Prop. de João Brasil, AM	6.8.76	27.8.76 (9:50-10:10h)	140	2	Em 27.8.76 às 14:30h estava deitado em posição externo-abdominal; às 16:10h fez tentativa fraca de se levantar; às* 16:15h foi levantado, teve tremores em todo o corpo, caiu e ficou em decúbito lateral; fez movimentos de pedagem e teve tremores; às 16:20h com movimentos de pedagem, respiração difícil; às 16:22h esticou as pernas, cerrou as pálpebras, deu uns berros fracos e às 16:25h morreu	6h25 min	-	10 min	Sem alterações
4174 (22495)	160	1404	INPA 78310	Mun. Sant'Ana do Araguaia, Faz. Vale do Cristalino, MT	10.7.78	10.7.78 (15:00-15:10h)	160	1	Em 11.7.78 foi tocado a partir das 8:12h; já após 2 min, urinava constantemente e apareceu espuma nos cantos da boca; depois se deitou e não mais quis levantar-se, mas após pouco tempo levantou-se; às 9:45h foi tocado de novo; às *9:47h de repente deitou-se, fez movimentos desordenados com a cabeça, teve dispnéia, respirando com a boca aberta; jugular saliente; às 9:49h deitou-se de lado, fez poucos movimentos de pedagem; respiração espaçada; às 9:50h morreu	18h50 min	2 min	3min	Pulmão com edema bilateral mais forte na parte diafragmática dos lobos diafragmáticos; nestas partes adicionalmente congestão; vesícula biliar com leve edema; linfonodos mesentéricos com congestão
4176 (22496)	200	"	"	"	"	11.7.78 (8:15-9:00h)	600	3	Em 11.7.78 a partir das *13:30h teve leves tremores musculares na região da omoplata e garupa; leve instabilidade; fazia movimentos de mastigação; animal em pé, parado; às 13:59h quase caiu; às 14:23h teve forte instabilidade, caiu em decúbito lateral, fazendo fortes movimentos de pedagem, cerrou fortemente as pálpebras, parou a respiração, fortes tremores musculares, voltou a respiração, cerrou novamente fortemente as pálpebras, pararam os movimentos de respiração; movimentos de pedagem, voltou a respiração, líquido verde escando pelas narinas, leves berros, animal todo agitado; cerrou fortemente as pálpebras e morreu às 14:55h	6h40 min	-	85 min	Pulmão com leve edema
4182 (22499)	Aprox. 100	1408	-	Mun. Conceição do Araguaia, Faz. São José, MT	13.7.78	15.7.78 (7:00-8:00h)	320	3,2	Em 16.7.78 às 6:00h foi solto; encontrado morto 300 m adiante; de acordo com o vaqueiro, deve ter morrido de repente	>23h <27h	-	?	Pulmão com leve edema; mucosa do coagulador com algumas petéquias; intestino delgado na sua parte final com forte congestão e conteúdo líquido
4271 (22623)	410	1614	-	Mun. Luciara, Faz. Codeara, MT	28.8.79	28.8.79 (18:15-18:30h)	510	1,24	Em 29.8.79 às 6:30h foi encontrado em decúbito lateral fazendo movimentos de pedagem, morrendo logo em seguida	11h15 min	-	?	Epicárdio e pleura com algumas petéquias, parede da vesícula biliar com leve edema
4272 (22624)	390	-	-	"	"	29.8.79 (8:30-10:00h)	1300	3,3	Em 29.8.79 às *15:55h estava em pé com membros posteriores um pouco abertos; às vezes sapateava; com tremores do trem posterior; às 15:56h caiu ao chão em decúbito lateral, fez fortes movimentos de pedagem; às 15:58h foi sangrado para aproveitamento da carne	7h25 min	-	3 min	Sem alterações
Anexo ao Quadro 1. Experimento em bovino realizado com as inflorescências frescas de <i>Palicourea marcgravii</i> , dose única													
506 (11639)	Aprox. 40	-	-	Mun. Rosário, Faz. Vale-quem-tem, MA	24.5.57	24.5.57 (12:30h)	25	0,625	Em 25.5.57 amanheceu morto; morreu aprox. às 3:00h	Aprox. 15h	-	?	Sem alterações
Experimento em bovino realizado com os frutos frescos de <i>Palicourea marcgravii</i> , dose única													
507 (11640)	Aprox. 120	-	-	Mun. Rosário, Faz. Vale-quem-tem, MA	24.5.57	25.5.57 (11:30h)	150	1,25	Em 26.5.57 às 8:45h tocou-se o animal; às 8:50h não queria mais andar, investindo contra as pessoas; às *8:55h andou de novo, balançando ligeiramente o trem posterior, e se deitou; às 8:56h, incitado a levantar-se, não o fez, deitou-se de lado e morreu logo em seguida, às 8:57h	21h26 min	10 min	2 min	Sem alterações

* O asterisco (*) anteposto à indicação da hora sempre significa que foi a partir dela que se considerou desencadeada a evolução dos sintomas próprios da "morte súbita".

o citoplasma dos hepatócitos corar-se mais intensamente pela eosina e a cromatina nuclear estar condensada, em 1 caso, dissociação dos cordões hepáticos, simultaneamente com edema dos espaços de Disse, em 1 caso. No rim foi verificada degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contornados distais (Fig. 16) em 2 casos (Sudan III sempre negativo), lesão semelhante em túbulos na parte externa da medular (alça de Henle) em 1 caso (Sudan III negativo); adicionalmente Sudan III revelou em 2 casos a presença de granulozinhos positivos na medular do rim, independentemente da degeneração hidrópico-vascular. Degeneração albuminosa-granular-vesicular na cortical foi verificada em 2 casos.

INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA

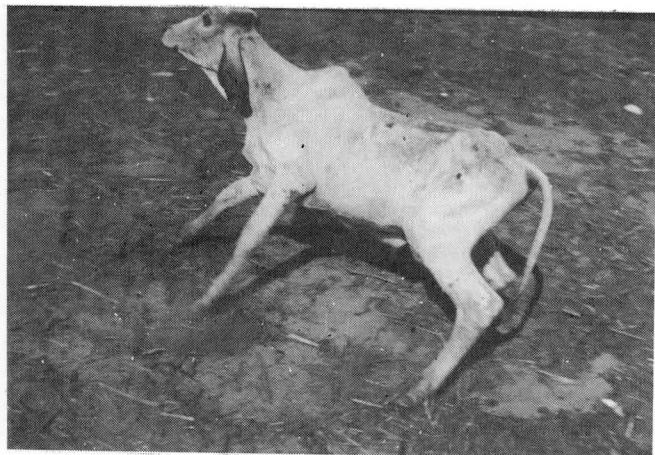
Os principais dados sobre os casos diagnosticados de intoxicação espontânea por *P. marcgravii* em bovinos são apresentados nos Quadros 7 e 8. Somente são apresentados casos em

que, além de históricos, achados de necropsia e exames histopatológicos condizentes, verificamos a presença de *P. marcgravii* no pasto onde os animais estiveram por ocasião da ocorrência (13 casos).

Em todos os casos o histórico era da ocorrência de doença de evolução muito rápida. Alguns animais já foram encontrados mortos (1/63 e 4750), em outros se presenciou a doença (954, 2761, 3765, 3768, 4068, 4273, 4274, 4275 e 4276), de 2 não há anotações a respeito. Em 6 bovinos não foram encontradas alterações à necropsia; nos outros 7 foram constatadas congestão pulmonar (Bov. 1/63), hemorragias no epicárdio (Bov. 3765 e 4273), na mucosa da traquéia (Bov. 1/63), na mucosa da vesícula biliar (Bov. 4275) e na serosa da vesícula biliar (Bov. 3765), edema na inserção da vesícula biliar (Bov. 4177) e de toda a parede da vesícula biliar (Bov. 2761, 4273 e 4276), e fígado ao corte com aspecto de noz-moscada (Bov. 4273).



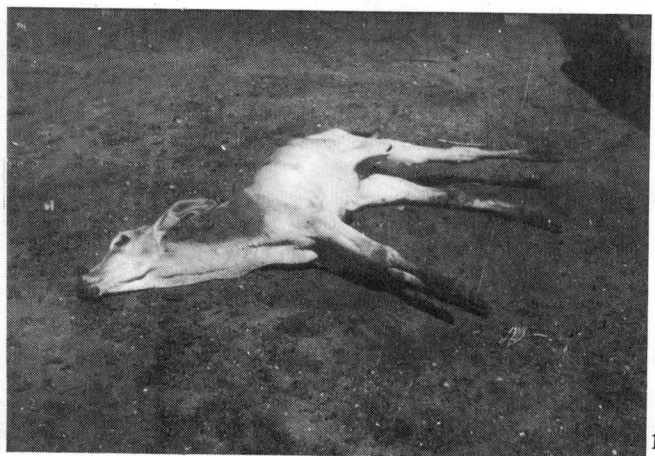
7



8



9



10

Fig. 7. As marcas de ferro recortadas das peles de bovinos mortos pela intoxicação por *P. marcgravii*, servindo de prova ao administrador da fazenda onde se perderam 150 animais em poucos meses. Mun. Barra do Garças, Mato Grosso.

Fig. 9. Intoxicação experimental por *P. marcgravii* em propriedade problema; o bezerro caiu subitamente há pouco, apresentando opistótono e fazendo fortes movimentos de pedalagem. Nessa propriedade, de região de mata, morreram 600 bovinos (50% do rebanho), no primeiro ano após a formação dos primeiros pastos. Mun. São Félix, Mato Grosso.

Fig. 8. Intoxicação experimental por *P. marcgravii*; o garrote está caindo após ter sido movimentado. Experimento realizado com folhas dessecadas. Mun. Engenheiro Passos, Rio de Janeiro.

Fig. 10. O animal da figura anterior está morrendo com convulsão final tônica dos membros, poucos minutos após ter mostrado os primeiros sintomas e ter caído ao chão ("morte súbita").

Quadro 2. Alterações histopatológicas na intoxicação experimental em bovinos com as folhas frescas de *Palicourea marcgravii*, doses únicas

Bovino Nº (mat. reg. SAP)	Coração							Fígado					Rim		
	Edema intracelular	Aumento da eosinofilia de fibras sem picnose	Necrose (aumento da eosinofilia de fibras, com picnose)	Afastamento entre fibras	Infiltrados inflamatórios não purulentos	Proliferação de fibroblastos	Tumefação dos hepatócitos com citoplasma granular	Vacuolização do citoplasma dos hepatócitos	Necrose (aumento da eosinofilia do citoplasma, núcleos com cromatina condensada)	Congestão	Dissociação dos cordões hepáticos	Edema dos espaços de Disse	Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos contornados distais	Degeneração hidrópico-vacuolar na medular	Degeneração albuminosa-granular-vesicular na cortical
500 (11637)	- ^a	-	-	-	-	-	Db+	C+	-	-	-	-	++	-	-
505 (11638)	-	-	-	-	-	-	D+	C+	-	-	C+	-	+ (+)	-	-
508 (11641)	-	-	-	-	-	-	P+	C+c I+c	-	-	C+	-	+++ ^c	-	-
843 (14129)	-	-	-	-	-	-	-	D+	-	-	-	-	++	+++	-
866 (14609)	-	-	-	-	-	-	-	-	(falta)	-	-	-	-	-	-
880 (14806)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D+	-	-	-	-
953 (15284)	A+	-	-	A+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
955 (15285)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D+	-	-	+++ ^c	++ ^c	-
956 (15286)	-	-	-	-	-	-	-	C (+) ^{c, e}	-	D+	-	-	++ (+) ^c	++ (+) ^c	-
3432 (20972)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3433 (20973)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3434 (20974)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++ ^c	-	-
3442 (21053)	D+	+	+	A+ (+)	+	-	D+++ ^c	-	-	D+	-	-	+ ^c	-	-
3445 (21055)	D+	-	D+	-	-	+	-	C+c I+++ ^c P+d	-	-	-	-	++(+) ^c	-	-
3583 (22034)	+	+	+	A+	A+	-	-	C+c	-	-	D+	D+	-	-	-
3769 (21895)	-	-	-	(falta)	-	-	-	C+++ I+++ P+	-	-	-	-	+++	+	-
3773 (21896)	-	-	-	(falta)	-	-	-	C+ I+	-	-	-	-	+++	-	-
3972 (falta)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3973 (22051)	-	-	-	A++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3982 (22053)	-	-	-	A++	A++	-	-	D+c C+++ ^c	-	-	D+	-	+ ^c	-	+
3983 (22054)	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
4067 (22139)	-	-	-	A++	A++ (+)	-	-	C+++ ^c	-	-	-	-	+++ ^c	-	-
4087 (22165)	-	-	-	A+	A+	-	-	C+c, e	-	-	D+	-	-	-	-
4174 (22495)	-	+	-	-	-	-	-	C+ (+) ^c	-	-	C+	C+	+ (+) ^c	-	-
4176 (22496)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+ ^c	-	-
4182 (22499)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D+	-	++ (+) ^c	-	-
4271 (22623)	-	-	-	A+	A+	-	P+	C+	P+	-	-	-	+++	-	-
4272 (22624)	-	-	-	A++	A+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Anexo ao Quadro 2. Alterações histopatológicas na intoxicação experimental em bovinos com as inflorescências frescas de *Palicourea marcgravii*, dose única

506 (11639)

(falta)

(falta)

+

-

-

Alterações histopatológicas na intoxicação experimental em bovinos com os frutos frescos de *Palicourea marcgravii*, dose única

507 (11640)

D+

C+

-

-

C+

-

+++

++

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

b P = periferilobular, I = zona intermediária do lóbulo, C = centrolobular; A = área(s). D = difuso.

c Sudan III negativo.

d Sudan III positivo.

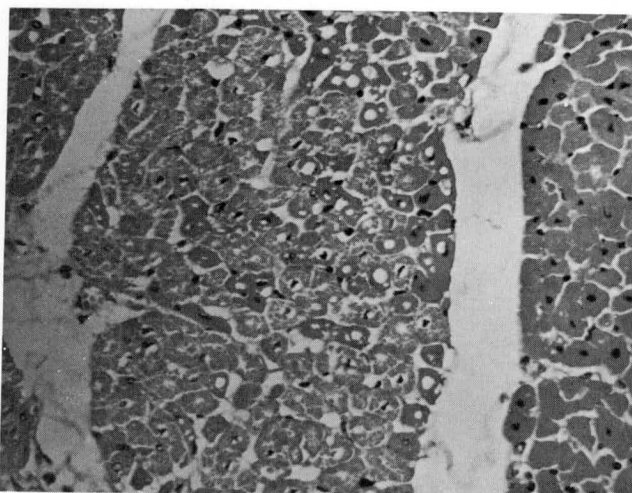
e Sudan III revelou presença de granulozinhos positivos, sob forma de poeira.

Também nos casos diagnosticados como casos espontâneos de intoxicação por *P. marcgravii* os principais órgãos afetados foram coração, fígado e rim. No coração foi constatado edema intracelular, em que as fibras cardíacas estavam vacuolizadas, em 1 caso, necrose de fibras cardíacas, individuais ou em pequenos grupos, caracterizada por forte eosinofilia do seu citoplasma com perda de sua estriação e núcleos picnóticos (Fig. 13) em 4 casos, em um havendo adicionalmente pequenos focos de lise de fibras cardíacas (Bov. 1/63) afastamento entre feixes de fibras cardíacas em 4 casos, em 2 simultaneamente com infiltrados de células redondas pequenas, e proliferação de fibroblastos em 1 caso. No fígado foi verificada tumefação dos hepatócitos em 4 casos, vacuolização do citoplasma dos hepatócitos (Fig. 14) em 4 casos (em 2 casos Sudan III negativo, em 1 caso positivo), necrose sob forma de o citoplasma dos hepatócitos corar-se mais intensamente pela eosina e a cromatina nuclear estar condensada, em 2 casos, em um deles ha-

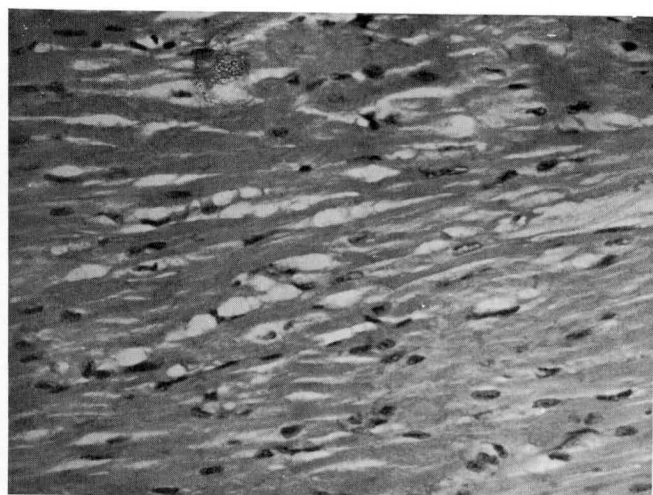
vendo até cariorrexia (Bov. 4273), congestão em 3 casos, dissociação dos cordões hepáticos em 6 casos, edema dos espaços de Disse em 1 caso, atrofia por compressão dos cordões hepáticos em 1 caso, e a presença de gotas hialinas em hepatócitos em 1 caso. No rim foi verificada degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contornados distais em 6 casos (Sudan III sempre negativo), lesão semelhante (degeneração hidrópico-vacuolar até lise) em túbulos na parte externa da medular (alça de Henle) (Fig. 17) em 6 casos (Sudan III também negativo), degeneração albuminoso-granular-vesicular na cortical em 2 casos.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

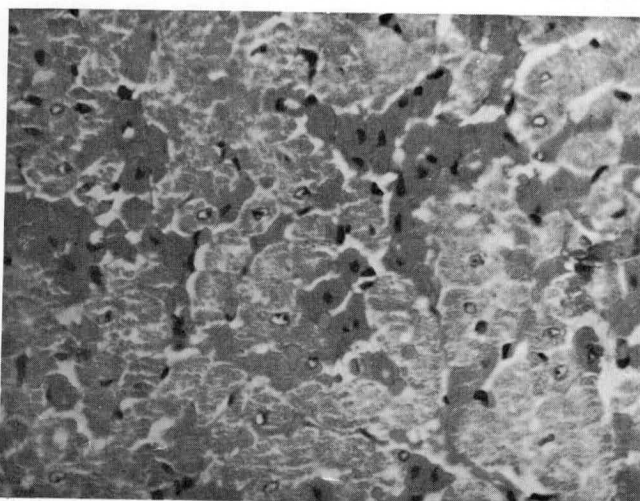
Em nossos experimentos *Palicourea marcgravii* revelou-se altamente tóxica para bovinos. Doses acima de 0,5 g/kg (a par-



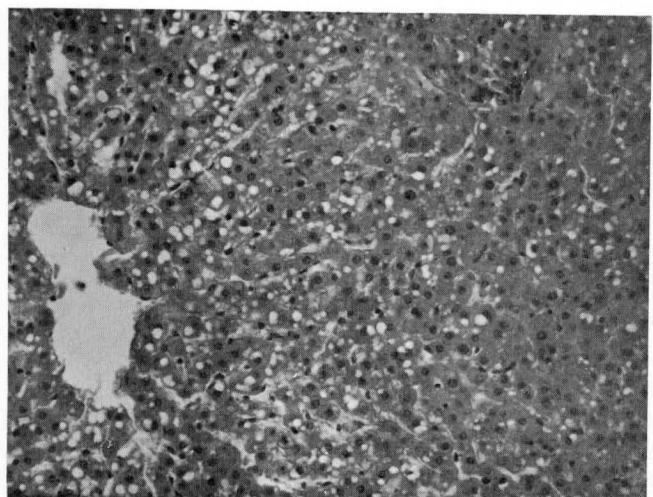
11



12



13



14

Fig. 11. Vacuolização de fibras cardíacas na intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii*, administração única de 0,77 g/kg de folhas frescas (Bov. 3442, SAP 21053). HE, obj. 25.

Fig. 12. Edema intracelular de fibras cardíacas na intoxicação experimental por *P. marcgravii*, administração única de 2 g/kg de folhas frescas (Bov. 3583, SAP 22034). HE, obj. 25.

Fig. 13. Eosinofilia acentuada do citoplasma e cariopicnose nas fibras cardíacas na intoxicação espontânea por *P. marcgravii* (Bov. 4750, SAP 23556). HE, obj. 40.

Fig. 14. Vacuolização de células hepáticas na intoxicação espontânea por *P. marcgravii* (Bov. 3768, SAP 21894). HE, obj. 16.

Quadro 3. Experimentos realizados em bovinos com as folhas dessecadas de *Palicourea marcgravii*, doses únicas

Bovino		Registro				Planta		Administração			Sintomas	Tempo entre o início da administração da planta e a morte	Tempo entre o início do exercício e começo dos sintomas	Evolução	Achados de necropsia
Nº (mat. reg. SAP)	Peso kg	Döb/Tok	SAP	Herbário	Local Coleta	Data	Data	Quant. g	Dose g/kg						
2194 (17545)	86	337	-	-	Mun. Linhares, Lagoa do Amarelo, ES	7.8.66	25.10.66 (15:00-15:25h)	100	0,29	Em 26.10.66 às 7:30h foi encontrado morto; com autólise incipiente; deve ter morrido aprox. à 1:00h	Aprox. 10h	?	?	No epicárdio pequena quantidade de petéquias	
4147	126	-	C12 AM77	-	Mun. Oriximiná, Faz. Sta. Isabel, PA	19.7.77	1.3.78 (21:15h)	31,5	0,25	Em 2.3.78 às 10:24h foi tocado; às 10:31h não quis mais correr; urinava aos poucos, pulso venoso positivo; no mesmo dia às 16:15h foi tocado de novo, às 16:17h não quis mais correr, urinava aos pingos; pulso venoso positivo; em 3.3.78 sem sintomas	-	-	-	-	
4148	145	-	"	-	"	"	7.3.78 (21:00h)	54,4	0,375	Em 8.3.78 às 8:00h quando foi tocado, logo com andar duro; às 8:05h com pulso venoso positivo; às 15:00h tocado, sem sintomas; em 9.3.78 não foi tocado, sem sintomas; em 10.3.78 às 8:30h estava parado, quando caiu de repente e ficou em decúbito lateral fazendo fortes movimentos de pedalagem durante 2 min.; depois assumiu o decúbito esternal; às 8:35h quando foi tocado, levantou-se com andar muito cambaleante, quase caindo; às 8:50h com tremores gerais, muita instabilidade; às 8:59h caiu sentado, colocou a cabeça no flanco; às 10:00h foi tocado, andar levemente desequilibrado; às 10:30h foi tocado, andar normal; depois sem sintomas	-	-	-	-	
4149 (22445)	141	-	"	-	"	"	8.3.78 (21:00h)	70,5	0,5	Em 9.3.78 às 7:50h estava em pé sem sintomas; às *7:55h ^a o animal caiu de repente, ficando logo em decúbito lateral; não fez movimentos de pedalagem e às 7:56h estava morto	10h56 min	-	1 min	Sem alterações	
4190	131	1404/05	VW	INPA 78310	Mun. Sant'Ana do Araguaia, Vale do Cristalino, MT	10.7.78	26.8.78 (18:00-18:30h)	65,5	0,5	Em 27.8.78 foi tocado das 10:10 às 10:18h; às 10:18h urinou, teve tremores musculares, pulso venoso positivo, com salvação; às 15:00h foi tocado durante 2 min., sem sintomas; em 28.8.78 foi tocado das 8:00 às 8:05h, sem sintomas	-	-	-	-	
4192 (22505)	117	"	"	"	"	"	29.8.78 (21:30-21:55h)	117	1,0	Em 30.8.78 foi tocado das 8:10 às 8:25, sem sintomas; das 13:15h às 13:25h foi tocado, no sol, sem sintomas; foi deixado no sol; às *14:10h caiu, berrou 4 vezes, fez movimentos desordenados, e às 14:15h estava morto	16h45 min	-	5 min	Sem alterações	
4198 (22575)	140	1227	C29 AM76	INPA 58820	Mun. Faro, Faz. Sta. Isabel, PA	12.8.76	13.3.79 (17:30-17:45h)	140	1,0	Em 14.3.79 às *8:34h com instabilidade, tremores musculares, pulso acelerado, narinas abertas; às 8:51h ao tentar ficar em pé, desequilibrou-se e acabou caindo e ficando em decúbito esternal; às 8:54h apoiou o focinho no chão, berrou 5 vezes e às 8:56h morreu nessa posição	15h26 min	-	22 min	Sem alterações	
4200	121	"	"	"	"	"	7.3.79 (17:30h)	60,5	0,5	Em 8.3.79 às 7:30h foi tocado durante 5 min., sem sintomas	-	-	-	-	
4250	205	1614	-	-	Mun. Luciara, Faz. Codeara, MT	28.8.79	1.7.80 (16:30h)	102,5	0,5	Em 2.7.80 foi tocado das 8:00 às 8:05h, sem sintomas	-	-	-	-	
4343	152	"	-	-	"	"	2.7.80 (16:00h)	152	1,0	Em 3.7.80 foi tocado das 8:00 às 8:05h, 11:00 às 11:05h e 16:00 às 16:05h, sem sintomas; em 4.7.80 foi tocado das 8:00 às 8:05h, sem sintomas	-	-	-	-	
4349	133	"	-	-	"	"	9.7.80 (19:45-20:10h)	266	2,0	Em 10.7.80 foi tocado das 8:15 às 8:25h, 10:40 às 10:45h e 16:10 às 16:20h, sempre cambaleou, durante o dia todo comeu pouco; em 11.7.80 foi tocado das 9:50 às 10:00h, sem sintomas	-	-	-	-	

^a O asterisco (*) anteposto à indicação da hora sempre significa que foi a partir dela que se considerou desencadeada a evolução dos sintomas próprios da "morte súbita".

Quadro 4. Alterações histopatológicas na intoxicação experimental em bovinos com as folhas dessecadas de *Fallicourea marcgravii*, doses únicas

Bovino n.º (mat. reg. SAP)	Coração				Fígado				Rim					
	Edema intracelular	Aumento da eosinofilia de fibras, sem picrose	Necrose (aumento da eosinofilia de fibras, com picrose)	Afastamento entre fibras	Infiltrados inamatórios não purulentos	Proliferação de fibroblastos	Tumefação dos hepatócitos com citoplasma granular	Vacuolização do citoplasma dos hepatócitos	Necrose (aumento da eosinofilia do citoplasma, núcleos com cromatina condensada)	Congestão	Dissociação dos cordões hepáticos	Edema dos espaços de Disse	Degeneração hidrópico- vacuolar dos túbulos conformados distais	Degeneração hidrópico vacuolar na medular
2194 (17545)	-	-	(falta)	- ^a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4149 (22445)	-	-	Ab+	-	A+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4192 (22505)	A+	-	A+	-	A+	-	D+(+) ^c	-	-	-	-	-	-	-
4198 (22575)	++(+)	-	A+	-	A+	-	-	P+	-	-	-	-	-	-

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

b P = periferilobular, I = zona intermeditária do lóbulo, C = centrolobular, A = área(s), D = difuso.

c Sudan III negativo.

tir de 0,6 g/kg) das folhas frescas causaram sempre a morte dos bovinos. Essas doses estão de acordo com as observadas por outros autores. Assim, nos experimentos de Pacheco & Carneiro (1932), um animal (garrote 1) recebeu 1 g/kg da planta fresca, e cerca de 10 horas depois da administração morreu; um segundo (garrote 2) recebeu 0,74 g/kg da planta coletada 3 dias antes, e morreu 8 horas depois da administração da planta. Cargano (1962) provocou a morte de bovinos experimentais com 5 g/kg e 0,87 g/kg de *P. marcgravii* (provavelmente fresca) em algumas horas após a ingestão. Costa et al. (1984) causaram a morte de 2 bovinos, 5 horas após a ingestão da planta verde sem flor, na dose de 5 g/kg, e de 2 outros bovinos, 10 horas após a ingestão da planta verde com flor, na dose de 1 g/kg. Em relação às folhas dessecadas de *P. marcgravii*, os nossos experimentos mostram que a planta continuou tóxica. Houve porém uma grande variação no grau de conservação de sua toxidez. Em parte dos experimentos as folhas dessecadas mantiveram integralmente sua toxidez (é preciso multiplicar a dose das folhas dessecadas por 3 para obter a dose correspondente em peso das folhas frescas), como se pode ver pelos experimentos nos Bov. 2194, 4174 e 4148; em outra parte dos experimentos as folhas perderam muito em toxidez, como pode ser visto pelos experimentos nos Bov. 4190 (as folhas frescas da mesma procedência e época de coleta causaram a morte do Bov. 4174 na dose única de 1 g/kg), 4200 e 4250, e especialmente nos Bov. 4343 e 4349 (as folhas frescas da mesma procedência e época de coleta causaram a morte do Bov. 4271 na dose única de 1,24 g/kg). Uma causa da perda da toxidez poderia ser o prazo desde a coleta das folhas até à sua administração aos animais. Para facilitar a verificação dessa possibilidade, relacionamos no Quadro 9 as diversas doses das folhas dessecadas administradas e os prazos decorridos desde a sua coleta até à sua administração. Infelizmente o número de nossos experimentos é pequeno demais para se poder tirar conclusões a esse respeito. Costa et al. (1984) causaram a morte de um de 2 bovinos 24 horas após a ingestão da planta seca sem flor na dose de 1 g/kg; o outro, com a mesma dosagem, sobreviveu; não são fornecidos maiores detalhes sobre a coleta e conservação da planta.

A planta demonstrou, em nossos experimentos, possuir efeito acumulativo, que era acentuado nas dosagens diárias de 1/5 da dose letal, e se fez sentir ainda nas dosagens diárias de 1/10 da dose letal. Essas mesmas dosagens, quando semanais, ou dosagens menores diárias, não causaram o aparecimento de sintomas de intoxicação. Já Pacheco & Carneiro (1932) observaram o efeito acumulativo de *P. marcgravii*. Em um de seus experimentos (garrote 3) o animal morreu cerca de 10 horas após a 5ª administração de doses iguais a 0,126 g/kg/dia da planta fresca dadas em um período de 7 dias (a planta não foi administrada diariamente) num total de 0,63 g/kg; em outro experimento (garrote 4) o animal recebeu em período de 9 dias (a planta também não foi administrada diariamente) um total de 0,42 g/kg da planta, provavelmente fresca, e após um intervalo de 26 dias mais uma dose de 0,28 g/kg, morrendo no dia seguinte. Em nossos experimentos o efeito acumulativo não se fez sentir sobre período tão longo como nesse último experimento desses autores. Também Costa et al. (1984) observaram

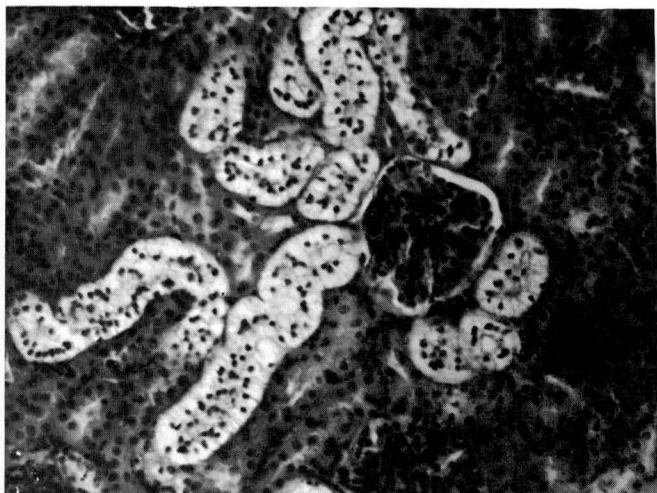
efeito acumulativo com *P. marcovii* em seus experimentos. Dois bovinos que receberam diariamente 0,1 g/kg da planta verde sem flor, morreram aos doze e aos vinte e dois dias.

Os sintomas e a morte dos bovinos puderam ser provocados ou precipitados pelo exercício, porém a maioria dos bovinos em nossos experimentos morreu sem ter sido exercitada. Outros autores não tecem comentários sobre esse tópico.

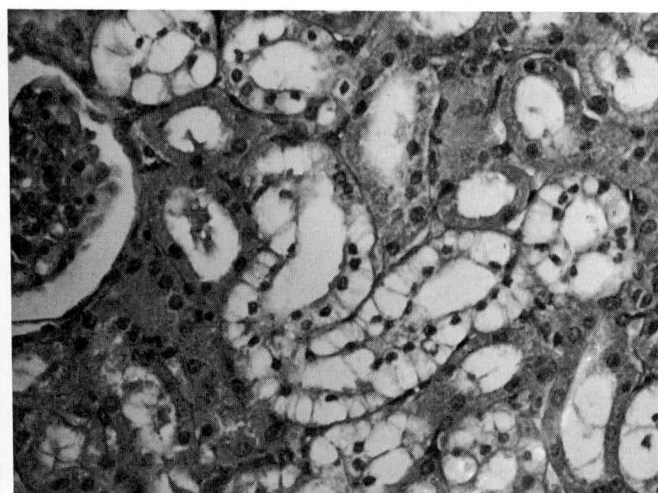
A ingestão de *P. marcovii* causou em nossos bovinos que receberam dose única da planta fresca ou dessecada o quadro clínico de "morte súbita", isto é, intoxicação de evolução superaguda, geralmente com sintomas de 1 a 10 minutos, no máximo até 85 minutos. Dos 3 bovinos que morreram nos experimentos de administrações repetidas da planta (experimentos de acumulação), um também mostrou sintomas nítidos somente durante um minuto, os outros 2 mostraram sintomas durante 12 e 55 horas respectivamente. Pacheco & Carneiro

(1932) conseguiram acompanhar a evolução clínica em 1 dos 2 bovinos que receberam dose única da planta, e nos 2 bovinos que a receberam repetidamente. A evolução sempre foi superaguda, de minutos. Costa et al. (1984) não fornecem dados sobre a evolução da intoxicação em seus bovinos experimentais.

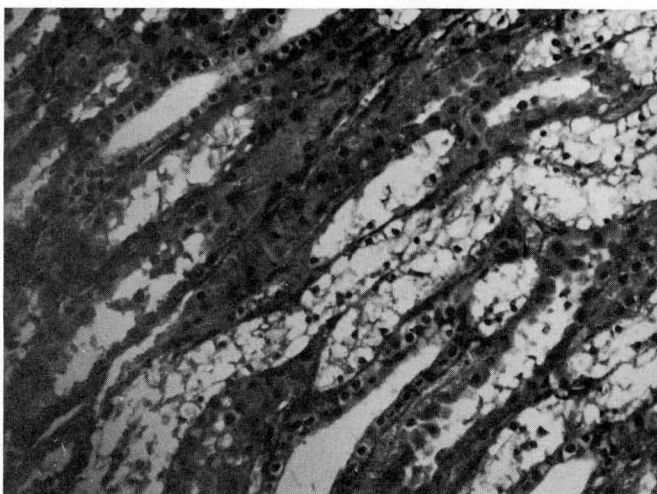
Os sintomas em nossos bovinos, tanto nos experimentos de administrações únicas com as folhas frescas ou dessecadas, como nos de administrações repetidas, se caracterizaram principalmente por pulso venoso positivo, desequilíbrio, instabilidade, tremores musculares, o animal assumia ou caía para o decúbito esterno-abdominal e lateral, taquipnéia, movimentos de pedalagem, cabeça em opistótono, cerração das pálpebras, berros e morte. Pacheco & Carneiro (1932) descreveram em 2 dos seus 4 bovinos experimentais queda violenta do animal ao solo, com morte logo em seguida. Camargo (1962), em relação à sintomatologia, só se refere a um de seus 2 bovinos experimen-



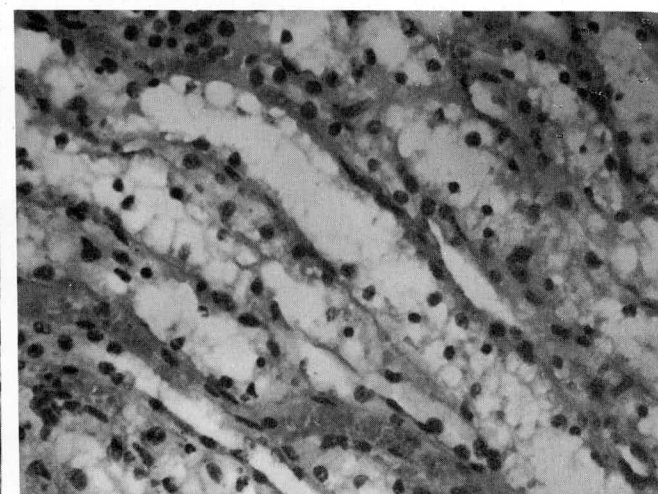
15



16



17



18

Fig. 15. Degeneração hidrópico-vacuolar do epitélio dos túbulos uriníferos contornados distais na intoxicação experimental por *P. marcovii*, administração única de 3,3 g/kg de folhas frescas (Bov. 508, SAP 11639). HE, obj. 16.

Fig. 17. Degeneração hidrópico-vacuolar e lise das células epiteliais de túbulos da alça de Henle na medular do rim, na intoxicação espontânea por *P. marcovii* (Bov. 4275, SAP 22627). HE, obj. 16.

Fig. 16. Degeneração hidrópico-vacuolar do epitélio dos túbulos uriníferos contornados distais na intoxicação experimental por *P. marcovii*, doses repetidas das folhas dessecadas (Bov. 4195, SAP 22580). HE, obj. 25.

Fig. 18. Degeneração hidrópico-vacuolar e lise de células epiteliais de túbulos da alça de Henle na medular no rim, na intoxicação experimental por *P. marcovii*, administração única de 0,5 g/kg de folhas frescas (Bov. 956, SAP 15286). HE, obj. 25.

Quadro 5. Experimentos realizados em bovinos com as folhas dessecadas de *Palicourea marcgravii*, doses repetidas

Bovino		Administrações			Sintomas	Achados de necropsia
Nº (mat. reg. SAP)	Peso kg	Período	Quantidade			
			Doses	Gramas da planta dessecada ^a		
<i>Planta VW 1404/05, igual à dada em doses únicas aos Bovinos 4190 e 4192; dose letal (dl) = 1 g/kg (2º semestre 1978) (vide Quadro 3)</i>						
4195 (22580)	143	23.8.78-7.2.79	25 adm. semanais de 1/5 dl = 5 dl	Inicialmente 28,6g, no fim 44,4g cada vez	Sem sintomas	-
	233	23.2.79	1 dl	233	Em 24.2.79 das 9:00 às 9:15h foi tocado; não queria andar, procurava sempre sombra; deitou-se uma vez, urinou; depois comeu bem	-
	233	2.3.79	1 dl	233	Em 3.3.79 a partir das 6:00h e durante todo o dia o animal toda vez que era tocado apresentava andar desequilibrado, com as pernas abertas, meio pulando; tremores musculares, urinava gotejando; às vezes o desequilíbrio era tão forte, que o animal fazia verdadeiro malabarismo para não cair; às vezes andava para trás; às 14:48h chegou a cair, ficando em decúbito lateral, com dispnéia, pulso venoso positivo; às 19:05h caiu de novo, ficando em decúbito esternal com os 4 membros afastados, fazendo movimentos desordenados com a cabeça; respiração ofegante, pescoço um pouco em S; às 20:45h com tremores ocasionais pelo corpo; superfície do corpo fria; em 4.3.79 durante o dia com andar um pouco duro; comeu pouco; em 5.3.70 sem sintomas	-
	230	8.3.79-21.3.79	14 adm. diárias de 1/5 dl	Sempre 46 g	A partir de 16.3.79 comia menos e estava com fezes levemente ressequidas; em 21.3.79 às 9:30h ^b no sol; dispnéia; às 10:30h foi tocado para o box; andar mole, não comia, ficou em decúbito esterno-abdominal a maior parte do dia; às 17:00h sopro cardíaco; às 22:00h com respiração (expiração) audível; pulso venoso positivo, em 22.3.79 não comeu nada o dia todo; passou a maior parte do tempo em posição esterno-abdominal; às 16:00h foi tocado bastante: sopro cardíaco; em 23.3.79 às 16:35h em decúbito esternal com respiração ofegante; levantou-se por si, perdeu o equilíbrio e caiu em posição esterno-abdominal com o corpo encostado à parede e estava morto às 16:36h	Fígado na superfície mais claro, ao corte com pequenas estrias branco-acinzentadas; parênquima com coloração castanho-alaranjada; parede da vesícula biliar com edema forte; pregas do coagulador com edema
4197	122	23.8.78-14.3.79	30 adm. semanais de 1/10 dl = 3 dl	Inicialmente 12,2g, no fim 20,6g cada vez	Sem sintomas	-
		15.3.79-3.5.79	54 adm. diárias de 1/10 dl = 5,4 dl	Sempre 20,6g	Em 14.4.79 foi tocado durante 5 min.; cansou rapidamente ficando com a respiração ofegante; pulso venoso positivo; em 19.4.79 foi tocado durante 5 min.: veia jugular saliente	-
4184	92	27.9.78-18.4.79	30 adm. semanais de 1/20 dl = 1,5 dl	Inicialmente 4,6g, no fim 9g cada vez	Sem sintomas	-
<i>Planta C29AM76 - 1227, igual à dada em doses únicas aos Bovinos 4198, 4200; dose letal (dl) = 1 g/kg (1º semestre 1979) (vide Quadro, 3)</i>						
4203 (22578)	105	14.3.79-18.3.79	5 adm. diárias de 1/5 dl = 1 dl	21g	Em 18.3.79 às 8:00h foi verificado que tinha comido tudo; sem sintomas; às 13:00h verificou-se que não comeu nada; em posição esterno-abdominal; tocado para levantar-se, mostrou forte instabilidade; às 13:12h foi tocado e apresentou andar com passos miúdos; às 13:14h não quis mais andar, com pulso venoso positivo, leves tremores musculares, que mais tarde se acentuaram; às 19:00h estava em pé; comeu a ração; em 19.3.79 às 7:00h foi encontrado morto; deve ter morrido aprox. à 1:00h	Sem alterações
4204 (22590)	113	14.3.79-2.5.79	50 adm. diárias de 1/10 dl = 5 dl	Inicialmente 11,3g, no fim 12,2g cada vez	Em 3.5.79 às 10:20h, no sol; com pulso venoso positivo; às 10:55h foi tocado; às 10:57h deitou-se; às 11:06h foi levantado, quando ficou em pé durante 1 minuto só, deitou-se, com dispnéia e pulso venoso positivo forte; às 12:55h em posição esterno-abdominal, com espuma à sua frente no chão; às 12:59h berrou 1 vez, foi-se deitando de lado, berrando mais uma vez, houve contração pelo corpo e às 13:00h estava morto	Pulmão com leve edema; fígado ao corte levemente mais claro; parede da vesícula biliar e serosa do duodeno com edema moderado

^a A quantidade administrada foi ajustada semanalmente ao peso atualizado do animal.

^b O asterisco (*) anteposto à indicação da hora sempre significa que foi a partir dela que se considerou desencadeada a evolução dos sintomas próprios da "morte súbita"

tais, dizendo que esse teve pulso acelerado, e que antes de morrer apresentou contrações clônicas e tônicas. Costa et al. (1984) não mencionam os sintomas que ocorreram em seus animais experimentais.

Em relação aos achados de necropsia em nossos bovinos experimentais que receberam doses únicas, tanto das folhas frescas (28 necropsias), como dessecadas (4 necropsias), chamou nossa atenção o fato de que em 50% deles não foram encontradas alterações, e mesmo nos restantes 16 as lesões foram poucas e inconsistentes. As lesões mais freqüentes foram hemorra-

gias no epicárdio (em 6 casos) e congestão pulmonar (em 5 casos). Nos bovinos que receberam doses repetidas (3 necropsias), em 1 também não foram encontradas alterações, nos outros 2 foi observado edema da parede da vesícula biliar e em outros órgãos, e se viu que o fígado era mais claro. Pacheco & Carneiro (1932) descreveram congestão e hemorragias no duodeno, hemorragias no epicárdio e congestão e hemorragias em ainda vários outros órgãos, para os 4 bovinos que morreram pela ingestão de doses únicas ou repetidas da planta. Camargo (1962) relata para os seus 2 bovinos experimentais que morre-

Quadro 6. Alterações histopatológicas na intoxicação experimental em bovinos com as folhas dessecadas de *Palicourea marcgravii*, doses repetidas

Bovino nº (mat. reg. SAP)	Coração					Fígado				Rim			
	Edema intracelular	Aumento da eosinofilia de fibras, sem picrose	Necrose (aumento da eosinofilia de fibras, com picrose)	Afastamento entre fibras	Infiltrados inflamatórios não purulentos	Proliferação de fibroblastos	Tumefação dos hepatócitos com citoplasma granular	Vacuolização do citoplasma dos hepatócitos	Necrose (aumento da eosinofilia do citoplasma, núcleos com cromatina condensada)	Dissociação dos cordões hepáticos	Edema dos espaços de Disse	Degeneração hidrópico- vacuolar dos túbulos contornados distais	Degeneração hidrópico- vacuolar na medular
4195 (22580)	+++a	-	-	A ^b +	A ⁺	-	-	I ⁺ P+++	C+++	-	+++	-e	++c
4203 (22578)	-	-	-	A++	A++	+	-	D+	-	-	++c	+(+)c	-
4204 (22590)	A+	-	-	-	-	-	-	C+++	C+	C+	-	-e	+++

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

b. P = periferlobular, I = zona intermediária do lóbulo, C = centrolobular; A = área(s), D = difuso.

c. Sudan III negativo.

e. Sudan III revelou presença de granulozinhos positivos, sob forma de poeta.

ram após a administração de uma dose de *P. marcgravii* "hemorragia generalizada, congestões renais e hepática e destacamento da mucosa do rúmen". Costa et al. (1984) descrevem para os seus 8 bovinos experimentais, que morreram pela administração de doses únicas ou repetidas de *P. marcgravii*, principalmente, hemorragias na pleura, epicárdio, endocárdio e superfície do rim, congestão no cérebro e cerebelo, pulmões (de coloração vermelha), intestino (mucosa avermelhada), fígado, vesícula biliar, medular renal (avermelhada); nos animais que receberam doses repetidas, foram observadas nítidas estriações na cortical e a medular era bastante pálida.

Os exames histopatológicos nos bovinos que morreram pela intoxicação por *P. marcgravii* revelaram alterações principalmente no coração, fígado e rim, que eram de natureza regressiva e circulatória. As lesões que mais chamaram a atenção foram verificadas no rim, sob a forma de degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos contornados distais. Na intoxicação experimental por doses únicas com as folhas frescas ela foi encontrada em 17 dos 28 casos, e em 5 deles foi observada também em túbulos retos da medular. Na intoxicação por doses únicas da planta dessecada, em nenhum dos 4 casos foi observada essa degeneração. Nos experimentos de administrações repetidas com a planta dessecada essa degeneração foi observada em 2 dos 3 casos, na cortical, em um deles também na medular. Essa lesão renal, bastante característica, tem sido encontrada na intoxicação pela maioria das plantas que no Brasil causam a síndrome da "morte súbita"⁵, porém sempre somente em parte dos animais. Quando presente, é de grande valor para o diagnóstico da intoxicação dessa natureza. No Quadro 10 encontram-se, em ordem crescente, as doses das folhas frescas administradas, e o grau de lesão renal encontrado para essas doses. No Quadro 11 encontram-se, também em ordem crescente, os períodos decorrentes desde a administração das folhas frescas até à morte do animal e o grau da lesão renal encontrada. Verifica-se pelo exame dos dados desses dois Quadros uma tendência para que quanto maior o prazo entre a administração das folhas e a morte do animal, maior a incidência e o grau da lesão renal. Em experimentos de administrações repetidas das folhas de *P. marcgravii* esperava-se uma alta incidência dessa lesão renal. Mas como os nossos experimentos de administrações repetidas foram feitos com as folhas dessecadas, e nos experimentos de administrações únicas com as folhas dessecadas essa lesão nunca foi observada, a presença da lesão renal nos experimentos de administrações repetidas realizados por nós, em somente 2 dos 3 animais que morreram, e de intensidade baixa, não fala contra a correlação de quanto maior o prazo entre a administração das folhas e a morte do animal, maior a incidência e o grau da lesão renal.

Em segundo lugar em frequência foi observada vacuolização das células hepáticas, quase sempre com reação negativa

5 Tem sido observada na intoxicação em bovinos por *Palicourea marcgravii*, *Palicourea aeneofusca*, *Palicourea grandiflora* (Rubiaceae), *Mascagnia rigida*, *Mascagnia pubiflora*, *Mascagnia* aff. *rigida* (Malpighiaceae), *Pseudocalymma elegans*, *Arrabidaea bilabiata*, *Arrabidaea japurensis* (Bignoniaceae); não foi descrita nas intoxicações por *Palicourea juruana* e *Mascagnia elegans*.

Quadro 7. Casos diagnosticados de intoxicação espontânea por *Palicourea marcgravii* em bovinos necropsiados

Nº (reg. SAP)	Bovino		Procedência	Histórico e sintomas	Achados de necropsia
	Sexo	idade			
Necr. 1/63 (15277)	Bovino, macho	aprox. 2 anos	Faz. Valparaíso, Engenheiro Passos, Mun. Resende, RJ	Em maio e junho de 1963 morreram 18 bovinos, em 2 pastos com capoeira. Os animais cambaleavam poucos minutos antes da morte ou não mostravam sintomas. Esse bovino morreu durante a noite	Grande coágulo no ventrículo esquerdo do coração, congestão pulmonar, algumas petéquias e equimoses na mucosa da laringe e tranquéia
954 (15287)	Vaca		„	Morreu subitamente, caindo no cocho, após ter comido uma parte da ração	Sem alterações
2761 (19645)	Vaca		Faz. Anhanguera, Mun. Guarai, GO	Foi trazido de Porongatu lote de 30 bovinos; saiu de lá em 12.4.70, foi solto aqui em 13.4.70; em 16.4.70 notou-se que esse bovino estava “diferente”; tinha andar com passos curtos, tremores; caiu, berrou; foi sangrado	Edema da parede da vesícula biliar
3765 (21891)	Novilha		Faz. Pecuaema, Mun. Barra do Bugres, MT	Em 17.7.75 o animal caiu e morreu dentro de aprox. 3 min. por ocasião da vacinação contra Febre Aftosa	No epicárdio e na serosa da vesícula biliar, hemorragias
3768 (21894)	Fêmea com 1 ano de idade		„	Em 17.7.75 o animal caiu no curral e morreu dentro de aprox. 4 min. na nossa presença	Sem alterações
4068 (22140)	Vaca		Faz. Barranco, Mun. Autaz, AM	Em 25.7.76 o animal veio do campo; logo após sua chegada foi encontrado deitado de lado, com respiração ruidosa e com tremores. Corremos para lá – o animal acabou de morrer	Sem alterações
4177 (22497)	Vaca		Faz. Vale do Cristalino, Mun. Sant’Ana do Araguaia, MT	Nessa fazenda morriam constantemente bovinos de “morte súbita”. Esse animal morreu em 6.7.78	Edema da parede da vesícula biliar junto ao tecido hepático
4178 (22498)	Novilha		„	„	Sem alterações
4273 (22625)	Vaca		Faz. Sta Terezinha, Mun. Luciara, MT	De 30 vacas apartadas magras, que iam para a engorda para depois serem abatidas, caíram e morreram 4 hoje, 29.8.79. Tinham ficado 2 dias no curral para trabalho de aparte. Nessa fazenda, com o total de 20.000 bovinos, 3.000 morriam de “morte súbita”, por ano	Fígado ao corte com aspecto de noz-moscada; edema da parede da vesícula biliar; hemorragias extensas no epicárdio do ventrículo e da aurícula
4274 (22626)	Vaca		„	„	Sem alterações
4275 (22627)	Vaca		„	„	Mucosa da vesícula biliar com petéquias múltiplas
4276 (22628)	Vaca		„	„	Parede da vesícula biliar com edema
4750 (23556)	Fêmea com aprox. 2 anos		Austin, Mun. Nova Iguaçu, RJ	Em 24 e 25.7.85 morreram ao todo 10 cabeças de gado sem terem sido vistas doentes; foram encontradas mortas	Sem alterações

Quadro 8. Alterações histopatológicas nos casos diagnosticados de intoxicação espontânea por *Palicourea marcgravii* em bovinos

Bovino n.º (mat. reg. SAP)	Coração						Fígado						Rim		
	Edema intracelular	Aumento da eosinofilia de fibras, sem picnose	Necrose (aumento da eosinofilia de fibras, com picnose)	Afastamento entre fibras	Infiltrados inflamatórios não purulentos	Proliferação de fibroblastos	Tumefação dos hepatócitos com citoplasma granular	Vacuolização do citoplasma dos hepatócitos	Necrose (aumento da eosinofilia do citoplasma, núcleos com cromatina condensada)	Congestão	Dissociação dos cordões hepáticos	Edema dos espaços de Disse	Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos contomados distais	Degeneração hidrópico-vacuolar na medular	Degeneração albuminosa-granular-vesicular na cortical
1/63 (15277)	- ^a	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+ (+)	+	-
954 (15287)	-	-	-	A ^b +	A+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2761 (19645)	-	-	-	-	-	-	D ⁺ c	C ⁺ c	-	-	-	-	+ (+) ^c	++ (+) ^c	-
3765 (21891)	-	-	-	-	-	-	D ⁺ c	-	-	-	-	-	-	-	-
3768 (21894)	-	-	-	(falta)	-	-	-	D+++	-	-	C+	C+	+	++	-
4068 (22140)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4177 (22497)	-	+	-	-	-	-	-	-	D+	-	+	-	-	-	-
4178 (22498)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
4273 (22625)	-	-	+	-	-	-	P+	P++ ^d	I++ C++	I++	I+	-	+ ^c	-	+ ^c
4274 (22626)	A+	+	-	A+	-	-	D ⁺ c	-	-	-	-	-	-	-	-
4275 (22627)	-	-	+	-	-	-	P+ I+	I ⁺ c	-	-	C+	-	++ (+) ^c	++ (+) ^c	++ ^c
4276 (22628)	-	+	-	A+	+	-	-	-	-	D+	-	-	+++ ^c	++ ^c	+ ^c
4750 (23556)	-	-	+	A+	-	-	-	-	-	I+	C+	C+	+	++	-

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

^b P = periferiolobular, I = zona intermediária do lóbulo, C = centrolobular; A = área(s), D = difuso.

^c Sudan III negativo.

^d Sudan III positivo.

^e Sudan III revelou presença de granulozinhos positivos, sob forma de poeira.

pelo Sudan III, que foi observada em 13 dos 28 bovinos que morreram pela administração de doses únicas das folhas frescas, em 1 dos 4 bovinos que morreram devido a ingestão de doses únicas das folhas dessecadas, e em todos os 3 bovinos que morreram devido à administração de doses repetidas das folhas dessecadas de *P. marcgravii*.

Menos frequentes foram as alterações no miocárdio, sob forma de vacuolização de fibras cardíacas, que ocorreram em 5 dos bovinos que morreram pela administração de doses únicas das folhas frescas de *P. marcgravii*; nos bovinos que morreram pela ingestão de doses únicas das folhas dessecadas, foi observada vacuolização das fibras cardíacas em 2 casos, e nos bovinos dos experimentos de doses repetidas das folhas dessecadas esta foi encontrada em 2 casos. Em 9 dos 28 bovinos que morreram pela administração de doses únicas da planta fresca, em 3 dos 4 que morreram pela ingestão de doses únicas da planta dessecada e em 2 dos 3 que morreram pela ingestão de doses repetidas da planta, foram observadas áreas de afastamento entre feixes de fibras cardíacas juntamente com infiltrados não purulentos. Acreditamos que essa última lesão não seja decorrente da intoxicação, pois ela além de ocorrer nos bovinos dos experimentos de doses repetidas, ocorreu também nos casos de administrações únicas, nos quais na haveria tempo suficiente para isto.

Os nossos achados histopatológicos diferem um pouco dos relatados por Costa et al. (1984), que descreveram para os seus 8 animais intoxicados experimentalmente por *P. marcgravii*, no coração degeneração turva, nos intestinos enterite catarral agu-

da, no fígado hiperemia difusa, e no rim hiperemia na região corticomedular e necrose de coagulação nos túbulos contornados proximais.

Através de nossos dados não é possível concluir qual o mecanismo de ação de *P. marcgravii* para causar a morte do animal. Podemos presumir que o(s) seu(s) princípio(s) tóxico(s) interfere(m) no funcionamento do coração; os animais morreriam de um colapso cardíaco, de uma insuficiência cardíaca aguda.

Em relação ao diagnóstico da intoxicação espontânea por *P. marcgravii* em bovinos, queremos salientar, que ele deve basear-se, como no de qualquer doença, no maior número possível de dados. Caracterizado pelos dados obtidos o quadro clínico-patológico dessa intoxicação, é preciso, antes de dar o diagnóstico, percorrer o campo onde os animais pastaram e verificar se *P. marcgravii* realmente existe na área e em quantidade suficiente. O dado mais importante é relativo à sintomatologia, a "morte súbita". A lesão microscópica dos rins, quando presente, é de grande valor. Essa lesão, apesar de bastante característica, não é patognomônica, e é encontrada não apenas na intoxicação por *P. marcgravii*, mas, conforme já mencionado, também foi verificada na intoxicação pela maioria das outras plantas que causam "morte súbita" em bovinos no Brasil. Devido ao fato de ela não ser encontrada em todos os casos de intoxicação por *P. marcgravii*, sua ausência não exclui a possibilidade de poder tratar-se de intoxicação por essa planta. O diagnóstico diferencial deve ser feito, principalmente, em relação às ou-

Quadro 9. Doses das folhas dessecadas de *Palicourea marcgravii* administradas e tempos decorridos desde a sua coleta até sua administração

Bovino n ^o	Dose ^c g/kg	Resultado	Coleta	Administração	Tempo decorrido desde a coleta das folhas até sua administração
2194	0.29	Morreu	7.8.66	25.10.66	2 meses 19 dias
4147	0.25	Sintomas leves	19.7.77	1.3.78	7 meses 12 dias
4148	0.375	Sintomas acentuados	9.7.77	7.3.78	7 meses 19 dias
4149	0.5	Morreu	19.7.77	8.3.78	7 meses 20 dias
4190 ^a	0.5	Sintomas leves	10.7.78	26.8.78	13 meses 16 dias
4192 ^a	1.0	Morreu	10.7.78	29.8.78	13 meses 19 dias
4198	1.0	Morreu	12.8.76	13.3.79	2 anos 7 meses 1 dia
4200	0.5	Sem sintomas	12.8.76	7.3.79	2 anos 6 meses 26 dias
4250 ^b	0.5	Sem sintomas	28.8.79	1.7.80	10 meses 4 dias
4343 ^b		Sem sintomas	28.8.79	2.7.80	10 meses 5 dias
4349 ^b	2	Sem sintomas	28.8.79	9.7.80	10 meses 11 dias

^a Bovinos n^{os} 4190 e 4192 receberam as folhas de *P. marcgravii* da mesma procedência (Faz. Vale do Cristalino, Mun. Sant'Ana do Araguaia, MT) e época de coleta (julho 1978) que em estado fresco foram administradas aos Bovinos 4174 (1 g/kg) e 4176 (3 g/kg), matando estes dois últimos bovinos (vide Quadro 1).

^b Bovinos n^{os} 4250, 4343 e 4349 receberam as folhas de *P. marcgravii* da mesma procedência (Faz. Codeara, Mun. Luciara, MT) e época de coleta (agosto 1979) que em estado fresco foram administradas aos Bovinos 4271 (1,24 g/kg) e 4272 (3,3 g/kg), matando estes 2 últimos bovinos (vide Quadro 1).

^c É preciso multiplicar a dose das folhas dessecadas por 3 para obter a dose correspondente em peso das folhas frescas.

Quadro 10. Doses das folhas de *Palicourea marcgravii* administradas, agrupadas em ordem crescente, e grau da lesão renal

Doses administradas	Bovino nº	Dose g/kg	Lesão renal (degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos contornados distais)
<i>Experimentos de administrações de doses únicas com folhas frescas</i>			
Menor que 1 g/kg	956	0,5	++ (+) ^a
	3442	0,77	+
	3769	0,6	+++
	3773	0,4	+++
	3978	0,5	Sem sintomas
	3980	0,25	Sem sintomas
De 1 a 2 g/kg	955	1,7	+++
	3433	1,2	-
	3434	1,8	+++
	3445	1	++ (+)
	3583	2	-
	3972	2	(falta)
	3982	2	+
	3983	2	-
	4067	2	++
	4087	2	(+)
	4174	1	++(+)
	4271	1,24	+++
	Maior que 2 g/kg	500	5,41
505		6,6	++
508		3,3	+++
843		3,1	++
866		2,1	-
880		2,1	-
953		15	-
3432		3	-
3973		5	-
4176		3	+
4182		3,2	++ (+)
4272		3,3	-
<i>Experimentos de administrações de doses únicas com folhas dessecadas</i>			
Até 0,5 g/kg	2194	0,29	-
	4147	0,25	Sintomas leves, recuperou-se
	4148	0,375	Sintomas acentuados, recuperou-se
	4149	0,5	-
	4190	0,5	Sintomas leves, recuperou-se
	4200	0,5	Sem sintomas
Maior que 0,5 g/kg	4192	1,0	-
	4198	1,0	-
<i>Experimentos de administrações repetidas com folhas dessecadas</i>			
4195	5 dl em 25 semanas (cada semana 1/5 dl) ^b	1 dl em uma vez	Sem sintomas
		1 dl em uma vez	Sintomas leves, recuperou-se
		3 dl (quase) em 14 dias (14 adm. diárias de 1/5 dl)	Sintomas acentuados, recuperou-se + (+)
4197	3 dl em 30 semanas (30 adm. semanais de 1/10 dl)	5,4 dl em 54 dias (54 adm. diárias de 1/10 dl)	Sem sintomas
		5,4 dl em 54 dias (54 adm. diárias de 1/10 dl)	Sintomas leves, recuperou-se
4184	1,5 dl em 30 semanas (30 adm. semanais de 1/20 dl)	3 dl em 30 semanas (30 adm. semanais de 1/20 dl)	Sem sintomas
4203	1 dl em 5 dias (5 adm. diárias de 1/5 dl)	5 dl em 50 dias (50 adm. diárias de 1/10 dl)	+
4204	5 dl em 50 dias (50 adm. diárias de 1/10 dl)		-

a +++ Lesão acentuada, ++ moderada, + leve, - ausente, (+) meio grau.
b dl = Dose letal.

tras plantas que causam "morte súbita", o que, de maneira geral, não é difícil, devido à diversidade da distribuição e do habitat delas; as poucas áreas onde ocorrem simultaneamente *P. marcgravii* e outra planta do grupo das que causam "morte súbita", são aquelas onde há *Palicourea grandiflora* e *Palicourea juruana*, na Amazônia (Tokarnia et al. 1979). Também deve ser feito o diagnóstico diferencial em relação a outras doenças que podem ter evolução superaguda, como carbúnculo hemático e picada de cobra, duas ocorrências raras em bovinos

no Brasil. Em pelo menos duas ocasiões tem-se levantado no Brasil hipóteses de que as "mortes súbitas" em bovinos de certas regiões seriam causadas ou estariam ligadas a certos distúrbios do metabolismo mineral de origem alimentar. Assim, Suttmöller et al. (1966), estudando na Região Amazônica mortes de evolução superaguda ("morte súbita"), que chamam de "mal de cai", e que de uma maneira geral são atribuídas pela população da região a plantas tóxicas, — chega à conclusão de serem causadas por um distúrbio mineral alimentar, decorrente da carência de sódio e potássio, associado a um desequilíbrio de Ca/P/Mg no soro, caracterizado por valores séricos aumentados de magnésio, relativamente altos de fósforo e diminuídos de cálcio. Hoje sabemos que essas "mortes súbitas" nas regiões visitadas por esses autores (Baixo Amazonas, Amapá) têm como causa principal a ação tóxica de *Palicourea marcgravii* (na "terra firme") e de *Arrabidaea bilabiata* (na "várzea"). Em outra ocasião foi levantada a suspeita de que as "mortes súbitas" que ocorrem na "zona da mata" em Pernambuco estariam ligadas a uma deficiência de cobre (Cavalcanti 1967), como tem sido descrito na Austrália para a chamada "falling disease" (Underwood 1981). Hoje sabemos que essas mortes que ocorrem na "zona da mata" de Pernambuco são causadas por *Palicourea aeneofusca* (Tokarnia et al. 1983). Até hoje não se tem verificado no Brasil a ocorrência da "falling disease" em bovinos, como foi descrita na Austrália, ligada à deficiência de cobre.

Em relação ao princípio tóxico de *P. marcgravii* tem sido demonstrada a presença de ácido monofluoroacético através da cromatografia (Oliveira 1963), porém ainda não foi possível isolar da planta essa substância. O ácido monofluoroacético, conhecidamente, interfere no metabolismo energético celular, isto é, no ciclo de Krebs; no organismo ele é convertido em citrato de flúor, que inibe por competição a aconitase, enzima esta responsável pelo metabolismo do citrato no ciclo energético de Krebs, resultando em parada cardíaca. *P. marcgravii* tem sido objeto, ainda, de diversos outros estudos em relação à presença de substâncias tóxicas ou de ação farmacológica (Guimarães 1934, Barnes & Gilbert 1960, Cascon & Mors 1962, Gagnin 1969).

Não conhecemos e não se pode recomendar qualquer tratamento, devido à evolução superaguda da intoxicação. Considerando-se que qualquer excitação do animal, como ocorreria durante o tratamento, poderá precipitar sua morte, recomenda-se deixar em sossego o animal intoxicado, durante alguns dias; como a planta tem efeito acumulativo, a eliminação do(s) princípio(s) tóxico(s) deve ser lenta. De acordo com observações de campo feitas por criadores e vaqueiros, 5 dias seriam suficientes para o animal se desintoxicar.

A profilaxia da intoxicação por *P. marcgravii* consiste em cercar as matas e capoeiras onde existe a planta, fazendo um bom aceiro junto às cercas, ou erradicá-la dos locais aos quais o gado tem acesso, e ter cuidado com pastos recém-formados em regiões de mata ou capoeira, inspecionando-se e arrancando o "cafezinho" e/ou combatendo-o com herbicidas antes de colocar os animais. Se a planta não for combatida em pastagem limpa sem sombra, ela com o tempo morre pela ação do sol; mas o prazo depende muito do tipo do solo. Em solos leves, ela perece mais depressa (em aprox. 2 anos), mas em solos argi-

Quadro 11. Períodos decorridos, em ordem crescente, desde a administração das folhas de *Palicourea marcgravii* até a morte do animal, e grau de lesão renal encontrado (administrações de doses únicas com as folhas frescas)

Tempo decorrido entre a administração da planta e a morte do animal	Bovino nº	Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos contornados distais
Até 8h	3433	—
	3444	++ (+) ^a
	3445	++ (+)
	3972	(falta)
	3982	+
	3983	—
	4067	++
	4087	(+)
	866	—
	880	—
	3432	—
	4176	+
	4272	—
	Mas de 8 até 12h	3442
3434		+++
3583		—
4271		+++
500		++
953		—
3973		—
Mais de 12h	955	+++
	956	++ (+)
	3769	+++
	3773	+++
	955	+++
	4174	++ (+)
	505	++
	508	+++
	843	++
	4182	++ (+)

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

losos ela pode resistir por bem mais tempo. Nestes últimos solos é recomendável no combate à planta, quando se arrancar o “cafézinho”, deixar no local da cova herbicida granulado para evitar a sua rebrota, de acordo com informações de fazendeiros.

Não se conhece antídoto ou substância que proteja os animais contra a intoxicação por *P. marcgravii*, misturável ao sal, no cocho, solução imaginada por muitos criadores.

REFERÊNCIAS

- Barnes R.A. & Gilbert M.E.A. 1960. Investigação química preliminar de várias plantas brasileiras. Presença de alcalóides, saponinas e outras substâncias. Bolm Inst. Quim. Agrícola, Rio de J. nº 58:9-26.
- Camargo W.A. 1962. Uma nova “erva-de-rato” tóxica para bovinos *Palicourea barbiflora* (?); comparação com a *Palicourea marcgravii* var. *pubescens* e com a *Psychotria officinalis*, Rubiaceae. Arqs Inst. Biológico, S. Paulo, 29: 1-11, e estampas I e II.
- Cascon S.C. & Mores W.B. 1962. Substâncias isoladas da *Palicourea marcgravii* St. Hil. Uma nova síntese da N-metil-tiramina. Anais da Associação Brasileira de Química 21: 53-60.
- Cavalcanti M.I. 1967. Comunicação pessoal. (Min. Agricultura, Recife, Dois Irmãos)
- Costa M.V., Nascimento E.F., Pessoa J.M. & Costa W.R. 1984. Lesões em bovinos intoxicados pela *Palicourea marcgravii* St. Hil. Arqs Bras. Med. Vet. Zootec. 36(5): 571-580.
- Döbereiner J. & Tokarnia C.H. 1959. Intoxicação de bovinos pela “erva de rato” (*Palicourea marcgravii* St. Hil.) no vale do Itapicuru, Maranhão. Arqs Inst. Biol. Anim., Rio de J., 2: 83-91.
- Gagnin M.A.H. & Maravalhas N. 1969. Ocorrência de alcalóides no gênero *Palicourea*. Anais XX Congr. Nac. Botânica, Goiânia, p. 91-105.
- Guimarães C.C. 1934. Herva de rato. Vida Médica 2:324-333.
- Hoehne F.C. 1932. Plantas tóxicas e suspeitas da Flora Brasileira. *Palicourea marcgravii* St. Hil. (*Psychotria marcgravii* Spreng.). Herva de rato verdadeira. Revta Ind. Animal, S. Paulo, 2(8): 873-881.
- Oliveira M.M. 1963. Chromatographic isolation of monofluoroacetic acid from *Palicourea marcgravii* St. Hil. Experientia 19: 586.
- Pacheco G. & Carneiro V. 1932. Estudos experimentais sobre plantas tóxicas. 1. Intoxicação dos animais pela “herva de rato da mata”. *Palicourea marcgravii* St. Hil. (*Psychotria marcgravii* Spreng.). Revta Soc. Paulista Med. Vet. 2(2-3): 23-46.
- Saint-Hilaire A. 1824. Histoire des plantes les plus remarquables du Brésil et du Paraguay. Tome premier, A. Belin, Paris, p. 204-206.
- Sutmöller P., Abreu A.V., Grift J., Sombroek W.G. 1966. Mineral imbalances in the Amazon valley. Communication nº 53, Dep. Agric. Res., Amsterdam.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J., Couceiro J.E.M. & Silva A.C.C. 1983. Intoxicação por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae), a causa de “mortes súbitas” em bovinos na Zona da Mata de Pernambuco. Pesq. Vet. Bras. 3(3): 75-79.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Silva M.F. 1979. Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros. INPA, Manaus, Brasil. 95 p.
- Underwood E.J. 1981. The mineral nutrition of livestock. 2nd ed. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, Slough, U.K., p. 95.

PRÉ-ENRIQUECIMENTO E ENRIQUECIMENTO DIRETO NA PESQUISA DE *Salmonella* EM FARINHA DE CARNE¹

A. BERCHIERI JR.², K. IRINO³, A. C. PAULILIO², S. N. NEME³, S. A. FERNANDES³,
S. N. KRONKA⁴ e G. V. A. PESSÔA⁵

ABSTRACT - Berchieri Jr. A., Irino K., Paulillo A.C., Neme S.N., Fernandes S.A., Kronka S.N. & Pessôa G.V.A. 1986. [Preenrichment and direct enrichment in survey of *Salmonella*.] Pré-enriquecimento e enriquecimento direto na pesquisa de *Salmonella* em farinha de carne. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 6(3):93-97. Depto Patol. Veterinária, Fac. Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, Rodovia Carlos Tonanni, Km 5, Jaboticabal, SP 14870, Brazil.

A comparison on several different culture procedures for *Salmonella* isolation from meat meals was made, using lactose broth, buffered peptone water, quarter strength Ringer's solution for preenrichment and selenite-novobiocin for direct enrichment in cultures incubated at 37°C and 43°C, with or without a layer of vaseline. All preenrichment procedures using cultures incubated at 43°C were superior to preenrichment ones using cultures incubated at 37°C and direct enrichment procedures using both 37°C and 43°C incubation temperatures. Nothing seemed to be gained by the use of a vaseline layer over for the purpose of stopping aerobic incubation. In what concerns lactose broth, buffered peptone water and quarter strength Ringer's solution media, no significant differences for efficiency were found.

INDEX TERMS: *Salmonella*, isolation, preenrichment, direct enrichment, meat meals.

SINOPSE.- O presente estudo teve o propósito de avaliar, durante investigação da presença de *Salmonella* em farinha de carne, o aproveitamento da solução de Ringer 1/4 (SR 1/4), como pré-enriquecimento, em comparação com o caldo lactosado e a água peptonada tamponada (APT) e também com o caldo selenito-novobiocina (SN) como enriquecimento direto, incubados a 37°C ou a 43°C, com ou sem uma camada de vaselina. Os resultados alcançados demonstraram que a 37°C é indiferente utilizar o pré-enriquecimento ou o enriquecimento direto. Mas a 43°C o pré-enriquecimento apresenta rendimento superior ao enriquecimento direto incubado a 37°C e a 43°C e ao pré-enriquecimento incubado a 37°C. A adição de vaselina é dispensável, por que não melhora o índice de isolamento. Quanto ao pré-enriquecimento, constatou-se que a SR 1/4 pode ser aproveitada em substituição ao caldo lactosado e à APT.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Salmonella*, isolamento, pré-enriquecimento, enriquecimento direto, farinha de carne.

INTRODUÇÃO

A inclusão do pré-enriquecimento entre as etapas da rotina bacteriológica, para isolamento de *Salmonella* em alimentos desidratados que sofreram tratamento térmico, foi inicialmente recomendada por North Jr. (1961), tendo em vista revitalizar as salmonelas, possibilitando a sua multiplicação em melhores condições, nos meios seletivos. Surgiram então outras publicações favoráveis ao pré-enriquecimento para isolamento de *Salmonella* de produtos alimentícios processados industrialmente (Taylor 1961, Gerichter & Sechter 1966, Ordal 1970, Smyser & Snoeyenbos 1971, Edel & Kampelmacher 1973, Gabis & Silliker 1974, Sveum & Kraft 1981, Werney et al. 1982, Yde & Ghysels 1984). Todavia, alguns trabalhos contestaram a sua indicação (Dawkins & Robertson 1967, Cox et al. 1980, Cox et al. 1982, Cox et al. 1983), inclusive, considerando o pré-enriquecimento prejudicial a ação posterior do caldo seletivo (Silliker et al. 1964). Outro aspecto de análise refere-se a temperatura de incubação desses meios. A temperatura de 37°C tem sido confrontada especialmente com as de 42°C e 43°C. Em geral, as salmonelas se multiplicam a 42°C ou 43°C enquanto outros microrganismos indesejáveis tem seu crescimento restringido (Taylor et al. 1964, Carlson et al. 1967, Harvey & Price 1968, Smyser & Snoeyenbos 1969, Smyser et al. 1970, Smyser & Snoeyenbos 1971).

Quanto a composição do caldo utilizado como pré-enriquecimento, North Jr. (1961) sugeriu o caldo lactosado. Van Schothorst & Van Leusden (1975) comparando o caldo lactosado com água peptonada tamponada, não notaram nenhuma

¹ Aceito para publicação em 2 de junho de 1986.

² Departamento de Patologia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, campus de Jaboticabal (FCAVJ) - Unesp, Rodovia Carlos Tonanni, km 5, Jaboticabal, SP 14870

³ Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, Caixa Postal 7027, São Paulo, SP 01000.

⁴ Departamento de Ciências Exatas, FCAVJ - Unesp.

⁵ Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas - USP, Caixa Postal 4365, São Paulo, SP 01000.

diferença nos resultados. Outros autores, avaliando caldos com diferentes composições, utilizados como pré-enriquecimento, também constataram que os resultados não dependem da constituição do meio (Gerichter & Sechter 1966, Thomason & Dodd 1978, D'Oust & Maishment 1979). Já Taylor & Silliker (1961) não assinalaram diferença quanto ao açúcar utilizado, mas ao compararem caldo lactosado com PBS (salina fosfatada tamponada), o primeiro apresentou melhores resultados.

A solução de Ringer 1/4 (SR 1/4) recomendada por Walker (1975) como diluente de amostras de farinha de origem animal para a análise microbiológica, foi empregada por Patterson (1969) em substituição ao caldo selenito e posteriormente, por Berchieri Jr. et al. (1984) como pré-enriquecimento de farinhas de origem animal para detecção de *Salmonella*. Berchieri Jr. et al. (1984) adicionaram à SR 1/4 e aos caldos enriquecedores vaselina líquida para diminuir a aeração e dificultar a multiplicação de *Pseudomonas sp.* Preocupação essa já demonstrada por Kafel & Kossakowska (1973) e Grunnet (1975).

Tendo-se em vista a necessidade de se viabilizar uma metodologia que possa ser de uso corrente para a pesquisa de *Salmonella* em um dos principais elos da cadeia epidemiológica, que são as matérias primas de origem animal destinadas à fabricação de rações, delineou-se o presente trabalho, em amostras de farinha de carne por ser a mais utilizada. Objetivou-se comparar durante a fase de pré-enriquecimento a SR 1/4, com o caldo lactosado e a água peptonada tamponada (APT) que são os mais utilizados (Galton et al. 1968, Edel & Kampelmacher 1973, Poelma & Silliker 1976, Andrews et al. 1978, LANARA 1981, Thomas et al. 1981), como também comparar o pré-enriquecimento com o enriquecimento direto em caldo selenito-novobiocina (SN). O ensaio foi efetuado incubando-se esses meios a 37°C e 43°C e adicionando-se ou não em suas superfícies uma camada de vaselina.

MATERIAL E MÉTODOS

Para realização deste ensaio utilizou-se 30 amostras de farinha de carne naturalmente contaminadas provenientes de remessas oriundas de uma fábrica de rações.

A seqüência bacteriológica empregada seguiu as recomendações contidas no Bacteriological Analytical Manual (BAM) (Andrews et al. 1978) e no Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (CMMEF) (Poelma & Silliker 1976) com algumas modificações segundo Berchieri Jr. et al. (1984).

De cada amostra, quatro inóculos de 25 gramas foram semeados em quatro frascos contendo 225 ml de caldo lactosado. Após homogeneização, adicionava-se vaselina líquida a dois dos frascos, para formar uma camada de aproximadamente dois centímetros na superfície do caldo. Todos os frascos permaneciam a temperatura ambiente durante 6 horas. Em seguida, um contendo a camada de vaselina e outro sem essa camada, eram incubados a 37°C durante 18 horas e os outros dois a 43°C pelo mesmo período. Posteriormente, de cada frasco, após homogeneização pipetava-se 2 ml de seu conteúdo para semeá-los em tubos contendo 20 ml de caldo selenito-novobiocina (SN). Os tubos contendo o caldo SN eram incubados por período de 24 a 120 horas, a 37°C ou 43°C, com ou sem a camada de vaselina, conforme o frasco com caldo lactosado que lhe deu origem. O caldo SN, demonstrando crescimento bacteriano, era plaqueado em ágar MacConkey e ágar verde brilhante, os quais eram incubados durante 24 horas a 37°C. As colônias não fermentadoras eram inoculadas no meio de diagnóstico presuntivo IAL (Instituto Adolfo Lutz), sendo incubadas por 24 horas a 37°C. A tipificação

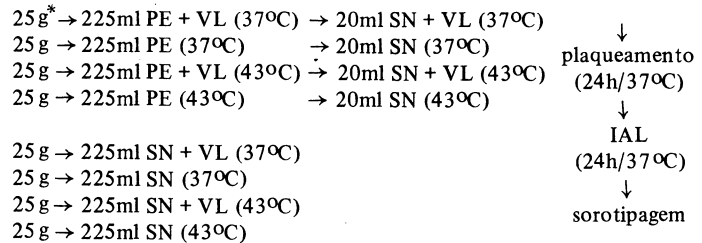
das salmonelas foi realizada pela Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz em São Paulo, SP.

A água peptonada tamponada (APT) e a SR 1/4 receberam o mesmo tratamento do caldo lactosado.

Com relação ao enriquecimento direto, quatro espécimes de 25 gramas de cada amostra de farinha, foram semeadas em quatro frascos contendo 225 ml de caldo SN. Desses, após homogeneização, dois receberam vaselina líquida para formar uma camada de aproximadamente dois centímetros de espessura. Todos os frascos permaneciam 6 horas à temperatura ambiente e em seguida, um contendo a camada de vaselina e outro sem, eram incubados a 37°C por período de 24 a 120 horas e os demais eram incubados pelo mesmo período a 43°C. Dentro desse período, quando o caldo SN apresentava coloração avermelhada, denotando multiplicação bacteriana, era plaqueada em ágar MacConkey e ágar verde brilhante, que eram incubados durante 24 horas a 37°C. A rotina a seguir era a mesma descrita para o caldo lactosado.

Para análise estatística empregou-se o teste do Qui-quadrado (X^2) segundo Gomes (1970).

Fluxograma da Análise Bacteriológica:



* 25g da amostra;

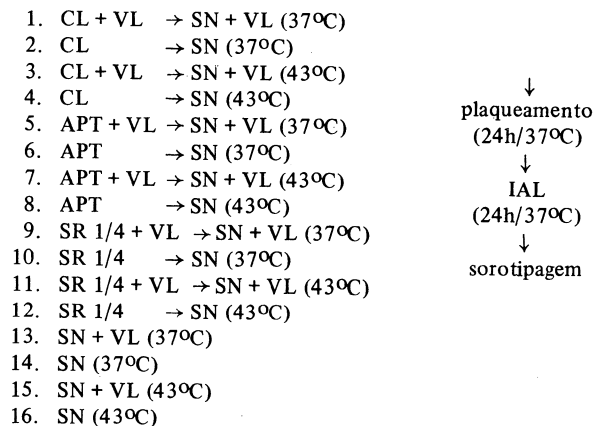
PE = Pré-enriquecimento; corresponde aos três meios utilizados: caldo lactosado, água peptonada tamponada e solução de Ringer 1/4;

VL = Vaselina líquida;

SN = Caldo selenito-novobiocina;

IAL = Meio Instituto Adolfo Lutz.

Seqüências Bacteriológicas Estudadas:



CL = Caldo lactosado;

VL = Vaselina líquida;

SN = Caldo selenito-novobiocina;

APT = Água peptonada tamponada;

SR 1/4 = Solução de Ringer 1/4;

IAL = Meio Instituto Adolfo Lutz.

RESULTADOS

No Quadro 1, estão presentes os dados correspondentes ao isolamento de *Salmonella* nas 30 amostras de farinha de carne uti-

lizadas para avaliação do pré-enriquecimento seguido de enriquecimento e do enriquecimento direto, incubados em diferentes temperaturas (37°C e 43°C) e recebendo ou não uma camada de vaselina. Conforme análise desses dados pelo teste do X² verificou-se que, durante a incubação à temperatura de 37°C não houve diferença quanto ao uso do pré-enriquecimento e do enriquecimento direto; entretanto à temperatura de 43°C, melhores resultados foram conseguidos com o emprego do pré-enriquecimento (significativo ao nível de 1% de probabilidade). Também observou-se que a 43°C ocorreu maior número de isolamento de salmonelas, levando a um maior número de amostras positivas (com significância ao nível de 1% de probabilidade). Quanto à influência da camada de vaselina, os resultados indicaram que o seu uso é indiferente. Ainda foi constatado que os três meios empregados como pré-enriquecimento tiveram desempenho semelhante, não havendo diferença significativa nos resultados.

Dentre as 30 amostras de farinha de carne estudadas, de apenas uma, não foi isolado sorotipo algum de *Salmonella* por nenhum dos métodos bacteriológicos empregados.

No Quadro 2 estão as salmonelas isoladas, conforme os meios de cultivo empregados durante as fases de pré-enriquecimento e enriquecimento direto, sendo ainda, considerada a temperatura de incubação e presença da camada de vaselina nas fases mencionadas. Com relação aos meios empregados como pré-enriquecimento e enriquecimento direto, pode-se observar que das 30 salmonelas encontradas, 22 foram isoladas através da SR 1/4, resultado esse numericamente superior aos verificados com os demais meios. Contudo, a análise estatística pelo teste do X² revelou que essa diferença não é significativa.

Quadro 1. Isolamento de *Salmonella*, em 30 amostras de farinha de carne, considerando o pré-enriquecimento, o enriquecimento direto, a temperatura de incubação e a adição de vaselina líquida nos meios líquidos.

Meios	Temperatura	Nº de amostras		Total
		Positivas	Negativas	
CL sem VL	37°C	4	26	30
CL + VL	37°C	7	23	30
CL sem VL	43°C	17	13	30
CL + CVLE	43°C	14	16	30
SR 1/4 sem VL	37°C	10	20	30
SR 1/4 + VL	37°C	9	21	30
SR 1/4 sem VL	43°C	15	15	39
SR 1/4 + VL	43°C	20	10	30
APT sem VL	37°C	7	23	30
APT + VL	37°C	8	22	30
APT sem VL	43°C	16	14	30
APT + VL	43°C	18	12	30
SN sem VL	37°C	6	24	30
SN + VL	37°C	10	20	30
SN sem VL	43°C	8	22	30
SN + VL	43°C	6	24	30

CL Caldo lactosado;
 SR 1/4 Solução de Ringer 1/4;
 APT Água peptonada tamponada;
 SN Caldo selenito + novobiocina usado como enriquecimento direto;
 VL Vaselina líquida.

Quadro 2. *Salmonelas* detectadas conforme os pré-enriquecimentos, o enriquecimento direto, as temperaturas de incubação e a adição de vaselina líquida nos meios líquidos

Sorotipo	CL	SR 1/4	APT	SN	37°C	43°C	C/V	S/V
<i>S. agona</i>	+	+	+		+	+	+	+
<i>S. anatum</i>	+	+	+		+	+	+	+
<i>S. binza</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. bredeney</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. cerro</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. eimsbuettel</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. grumpensis</i>	+	+	+		+	+	+	+
<i>S. havana</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. infantis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. infantis 014+</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. inganda</i>			+			+		+
<i>S. kentucky</i>		+				+	+	+
<i>S. lexington</i>	+	+	+		+	+	+	+
<i>S. lille</i>		+				+		+
<i>S. manila</i>	+		+		+	+	+	+
<i>S. mbandaka</i>		+	+	+		+	+	+
<i>S. mdandaka 014+</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. montevidéo</i>		+	+		+	+	+	+
<i>S. morehead</i>	+				+	+	+	+
<i>S. newington</i>		+		+	+	+	+	+
<i>S. oranienburg</i>		+	+		+	+	+	+
<i>S. senftenberg</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. taksony</i>				+		+	+	
<i>S. saint paul</i>				+		+		+
<i>S. 4,12:-SG I</i>	+					+		+
<i>S. 4,12:d:-SG I</i>		+				+	+	
<i>S. cubana</i>	+	+	+		+	+	+	+
<i>S. cubana d-tartarato-</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. cepa rugosa SG I</i>			+		+		+	
<i>S. cepa rugosa SG I dt+</i>				+	+			+
Total	18	22	20	15	20	28	25	26

CL Caldo lactosado;
 SR 1/4 Solução de Ringer 1/4;
 APT Água peptonada tamponada;
 SN Caldo selenito-novobiocina;
 C/V Com camada de vaselina;
 S/V Sem camada de vaselina;
 SGI Sub-gênero I.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O propósito desta pesquisa não é a preconização da melhor metodologia para o isolamento de salmonelas em farinha de carne empregada como matéria prima de ração animal. Esse assunto tem sido focado de forma mais abrangente em países possuidores de melhores condições econômicas e tecnológicas. Mesmo assim, a metodologia para o isolamento de salmonelas de farinhas de origem animal, de rações e de produtos alimentícios industrializados para consumo humano, continua sendo objeto de estudo. Assim planejou-se o presente ensaio para se verificar a possibilidade de uso de uma rotina bacteriológica que mais se identifique com as condições do nosso país; mas que também leve a resultados semelhantes aos observados em rotinas convencionais.

Foram comparados três meios, de diferentes constituições, empregados durante a fase de pré-enriquecimento: caldo lacto-

sado, água peptonada tamponada (APT) e a solução de Ringer 1/4 (SR 1/4) contendo apenas sais minerais indicado como diluente de produtos em pó para investigação de salmonelas (Walker 1957) e que, tendo sido posteriormente usado, em substituição ao caldo enriquecedor, por Patterson (1969), apresentou resultados irrisórios. Entretanto, ao ser empregada pela primeira vez como pré-enriquecimento, em amostras de farinhas de origem animal destinadas à fabricação de rações, por Berchieri Jr. et al. (1984), apresentou resultados favoráveis. Apesar de North Jr. (1961) enfatizar que os caldos à base de açúcares são necessários para dificultar o desenvolvimento dos competidores das salmonelas através da diminuição do pH, os resultados observados, no que concerne ao caldo lactosado e a APT são concordantes a relatos anteriores (Van Schothorst & Van Leusden 1975, Thomason & Dodd 1978), onde o rendimento de ambos foi equivalente. Quanto à SR 1/4, os resultados da análise estatística, demonstraram-na igualmente eficiente aos demais meios estudados, indicando sua utilização para a fase de pré-enriquecimento para pesquisa de *Salmonella* em amostras de farinha de origem animal, conforme pressuposição anterior (Berchieri Jr. 1984).

Os resultados alcançados na presente pesquisa, enfatizando o uso do pré-enriquecimento, encontram apoio na literatura especializada (Edel & Kampelmacher 1973, Kafel & Kossakowska 1973, Thomason & Dodd 1978, Sveum & Kraft 1981, Wernery et al. 1982). Contudo, só foi visualizado quando a temperatura de incubação era de 43°C. À temperatura de 37°C, estatisticamente, o pré-enriquecimento não diferiu do enriquecimento direto, resultado esse já demonstrado em trabalhos como o de Taylor et al. (1964) em produtos alimentícios, o de Thomason & Dodd (1978) em carne e em carcaça de aves e o de Cox et al. (1980) em carcaça resfriada de aves, assim como em outros, contestando a utilidade do pré-enriquecimento, inclusive achando-o prejudicial a ação subsequente do caldo enriquecedor, durante pesquisa de salmonelas em amostras de rações (Cox et al. 1982, Cox et al. 1983).

No tocante a temperatura de incubação, durante o isolamento de *Salmonella*, em materiais contendo outras bactérias, alguns autores consideram a incubação do pré-enriquecimento a 35°C ou a 37°C satisfatória (Gerichter & Sechter 1966, D'Oust & Maishment 1979), seguida de incubação do caldo enriquecedor a 43°C (Edel & Kampelmacher 1973, Van Schothorst & Van Leusden 1975), enquanto outros acham indiferente incubar a 37°C ou a 43°C (Cox et al. 1982). Todavia, abundantes são os relatos atinentes à incubação do pré-enriquecimento, do enriquecimento ou de ambos, à temperatura de 42°C ou 43°C (Carlson et al. 1967, Harvey & Price 1968, Smyser & Snoeyenbos 1969, Smyser et al. 1970, Smyser & Snoeyenbos 1971).

Carlson et al. (1967), durante pesquisa de *Salmonella* em farinha de carne e osso e em cama de aves, notaram melhor desempenho do caldo selenito incubado à 43°C em detrimento do mesmo a 37°C. Nesta pesquisa, a temperatura não interferiu nos resultados com relação ao enriquecimento direto, mas no que diz respeito ao pré-enriquecimento seguido do enriquecimento em caldo SN, houve interferência estatisticamente significativa (Quadro 1). As seqüências bacteriológicas incubadas

a 43°C detectaram salmonelas aproximadamente, em número dobrado de amostras em comparação aos conseguidos durante a incubação do pré-enriquecimento a 37°C e do enriquecimento direto a 37°C e a 43°C. Concomitantemente ao maior número de isolamentos, ocorreu também detecção de maior número de salmonelas (Quadro 2). Assim como Van Schothorst & Van Leusden (1975), que não notaram evidência alguma de que a temperatura (37°C ou 43°C) interfira com a salmonela isolada, presume-se que o maior número detectado a 43°C, seja decorrente da maior freqüência de isolamentos conseguidos nesta temperatura.

Já a aplicação da camada de vaselina nos meios utilizados como pré-enriquecimento e enriquecimento e considerando os resultados alcançados (Quadros 1 e 2), mediante análise estatística, observa-se que o seu uso é dispensável, apesar de Berchieri et al. (1984) haverem acreditado que ela favorecia o isolamento de *Salmonella* por dificultar a multiplicação de *Pseudomonas sp.* em virtude de diminuir a aeração do meio. Outros autores utilizando diferentes métodos como anaerobiose em jarra (Kafel & Kossakowska 1973) e adição de uma camada de óleo mineral (Grunnet 1975) também concluíram que a anaerobiose não contribui para melhorar as condições de isolamento. Todavia, ao exame do Quadro 1, é possível notar que a SR 1/4 e a APT, quando portadores de uma camada de vaselina, com incubação a 43°C, apresentaram os melhores resultados entre as seqüências bacteriológicas confrontadas nesta pesquisa.

Especialmente no que diz respeito à farinha de carne, a investigação de *Salmonella* constitui-se em um importante passo para a determinação de medidas de combate à salmoneloses humana e animal. Haja visto, neste trabalho, onde constatou-se que das 30 amostras colhidas de 30 diferentes remessas recebidas por uma fábrica de ração, 20 continham *Salmonella*.

REFERÊNCIAS

- Andrews W.H., Poelma P.L., Wilson G.R., Romero A. 1978. VI. Isolation and identification of *Salmonella*, p. 1-29. In: Bacteriological Analytical Manual. 5th ed. Department of Health, Education and Welfare, Washington.
- Berchieri Jr. A., Irino K., Neme S.N., Paulillo A.C., Calzada C.R., Ferreira S.A., Pessoa G.V.A. 1984. Contaminação por *Salmonella* em farinhas de origem animal utilizadas no preparo de rações. *Pesq. Vet. Bras.* 4(3): 83-88.
- Carlson V.L., Snoeyenbos G.H., McKie B.A., Smyser C.F. 1967. A comparison of incubation time and temperature for the isolation of *Salmonella*. *Avian Dis.* 11(2): 217-225.
- Cox N.A., Bailey J.S., Thomson J.E. 1982. Effect of various media and incubation conditions on recovery of inoculated *Salmonella* from poultry feed. *Poultry Sci.* 61:1314-1321.
- Cox N.A., Bailey J.S., Thomson J.E. 1983. Comparison of preenrichment to direct enrichment and the effect of pyruvate in media for recovery of salmonellae infected. *Poultry Sci.* 62: 947-951.
- Cox N.A., Bailey J.S., Thomson J.E., Carson M.O. 1980. Lactose preenrichment versus direct enrichment for recovering *Salmonella* from deep-chilled broilers and frozen meat products. *Poultry Sci.* 59: 2431-2436.
- D'Oust J.Y. & Maishment C. 1979. Preenrichment conditions for effective recovery of *Salmonella* in foods and feed ingredients. *J. Food Protection* 42(2): 153-157.

- Dawkins H.C. & Robertson L. 1967. Salmonellas in animal feeding stuffs. Mon. Bull. Minist. Hlth 26: 215-221.
- Edel W. & Kampelmacher E.H. 1973. Comparative studies on the isolation of sublethally injured salmonellae in nine european laboratories. Bull. Wld Hlth Org. 48: 167-174.
- Gabis D.A. & Silliker J.H. 1974. ICMSF methods studies. II. Comparison of analytical schemes for detection of *Salmonella* in high-moisture foods. Can. J. Microbiol. 20: 663-669.
- Galton M.M., Morris G.K., Martin W.T. 1968. Salmonellae in foods and feeds. Review of isolation methods and recommended procedures. US-HEW, Department of Health, Education and Welfare. 41p.
- Gerichter C.B. & Sechter I. 1966. Comparison of methods for the isolation of *Salmonella* from bone meal. Appl. Microbiol. 14 (5): 711-715.
- Gomes F.P. 1970. Curso de Estatística Experimental. 4.º ed. ESALQ, Piracicaba. 430 p.
- Grunnet K. 1975. *Salmonella* in sewage and receiving waters. Copenhagen: Fadl's Fortag. Citado por Harvey R.W.S. & Price T.H. 1979. A review principles of *Salmonella* isolation. J. Appl. Bacteriol. 46: 27-56.
- Harvey R.W.S. & Price T.H. 1968. Elevated temperature incubation of enrichment media for the isolation of salmonellas from heavily contaminated materials. J. Hyg., Camb., 66: 377-381.
- LANARA 1981. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus integrantes. I. Métodos microbiológicos. Vol. 1. Laboratório Nacional de Referência Animal, Secr. Nac. Defesa Agropecuária, Min. Agricultura, Brasília.
- Kafel S. & Kossakowska A. 1973. Comparative investigations on various methods of *Salmonella* isolation from fodder meals. Bull. Vet. Inst. Pullawy 17(1-2): 38-43.
- North Jr. W.R. 1961. Lactose pre-enrichment method for isolation of *Salmonella* from dried egg. Its use in a survey of commercially produced albumen. Appl. Microbiol. 9: 188-195.
- Ordal Z.J. 1970. Current developments in a detection of microorganisms in foods: influence of environmental factors on detection methods. J. Milk Food Technol. 33(1): 1-5.
- Patterson J.T. 1969. Salmonellae in meat and poultry, poultry plant cooling waters and effluents, and animal feedingstuffs. J. Appl. Bacteriol. 32: 329-337.
- Poelma A.L. & Silliker J.H. 1976. *Salmonella*. p. 301-308. In: Speck M.L. (ed.) Compendium of methods for the microbiological examination of foods. APHA.
- Silliker J.H., Deibel R.H., Fagan P.T. 1964. Isolation of salmonellae from food samples. VI. Comparison of methods for the isolation of *Salmonella* from egg products. Appl. Microbiol. 12(3): 224-228.
- Smyser C.F. & Snoeyenbos G.H. 1969. Evaluation of several methods of isolating salmonellae from poultry litter and animal feedstuffs. Avian Dis. 13(1): 134-141.
- Smyser C.F. & Snowyenbos G.H. 1971. Enrichment serology compared with a direct-culture procedure for isolating salmonellae from rendered animal by-products. Avian Dis. 15(3): 581-587.
- Smyser C.F., Snoeyenbos G.H., McKie B. 1970. Isolation of salmonellae from rendered by-products and poultry litter cultured in enrichment media incubated at elevated temperatures. Avian Dis. 14(2): 248-254.
- Sveum W.H. & Kraft A.A. 1981. Recovery of salmonellae from foods using a combined enrichment technique. J. Food. Sci. 46: 94-99.
- Taylor W.I. 1961. Isolation of salmonellae from food samples. V. Determination of the method of choice for enumeration of *Salmonella*. Appl. Microbiol. 9: 487-490.
- Taylor W.I., Hobbs B.C., Smith M.E. 1964. Comparison of two methods for the isolation of salmonellae from imported foods. Appl. Microbiol. 12 (1): 53-56.
- Taylor W.I. & Silliker J.H. 1961. Isolation of salmonellae from samples. IV. Comparison of methods of enrichment. Appl. Microbiol. 9: 484-486.
- Thomason B.M. & Dodd D.J. 1978. Enrichment procedures for isolating salmonellae from raw meat and poultry. Appl. Environ. Microbiol. 36(4): 627-628.
- Thomas R.J., Smeltzer T.I., Tranter G. 1981. Examination of stock-feeds for *Salmonella*. Aust. Vet. J. 57: 69-61.
- Van Schothorst M. & Van Leusden F.M. 1975. Comparison of several methods for the isolation of salmonellae from egg products. Can. J. Microbiol. 21: 1041-1045.
- Walker J.H.C. 1957. Organic fertilizers as a source of *Salmonella* infection. Lancet 11: 283-284.
- Wernery U., Leach A., Pangumen M. 1982. Comparative quantitative study of sublethally damaged *Salmonella* in heated an unheated chicken feed. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 89 (11): 445-450. (Vet. Bull. 53(7): 635, 1983)
- Yde M. & Ghysels G. 1984. Performance of several enrichments media in the isolation of salmonellae from egg products. J. Food Protection 47(3): 217-219.

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DO VÍRUS DA DOENÇA DE AUJESZKY DE SURTOS EM SUÍNOS NO ESTADO DE SANTA CATARINA¹

CHERYL ANN ROWE² e CARLOS H. ROMERO²

ABSTRACT.- Rowe C.A. & Romero C.H. 1986. [Isolation and identification of Aujeszky's disease virus from outbreaks in swine in the State of Santa Catarina.] Isolamento e identificação do vírus da doença de Aujeszky de surtos em suínos no Estado de Santa Catarina. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 6(3):99-103. Centro Nac. Pesq. Suínos e Aves, Embrapa, Cx. Postal D-3, Concórdia, SC 89700, Brazil.

From April 1983, through December 1985, 18 isolations of Aujeszky's disease virus (ADV) were made in the State of Santa Catarina, Brazil, from the brains of piglets (17 samples) and a dog, all of which had shown nervous symptoms. All viruses were isolated either in primary cultures of chicken embryo fibroblasts or in a swine kidney cell line. Identification of the isolated agents was made both by direct immunofluorescence (IF) on coverslips and by virus neutralization (VN) in microplates, using reference serum specific for ADV. All 18 isolates induced a cytopathic effect (CPE) typical of herpesvirus, first noticeable 24 hours after inoculation and characterized by the rounding up and high refractiveness of affected cells. Direct IF demonstrated intense fluorescence of the entire cell monolayer in cultures inoculated with 10% and 1% brain suspensions, while 0.1% suspensions allowed the formation and visualization of bright fluorescent plaques amidst dark areas of uninfected cells. The presence of ADV was also confirmed in the VN test using the third passage of each of the 18 isolates. Characteristic herpesvirus CPE was observed in cultures inoculated with mixtures of the isolates and negative reference serum, while no CPE was seen in cultures inoculated with mixtures of the isolates and positive reference serum. Extracts prepared from the cell fraction and from the fluids of infected cultures contained two antigens that were demonstrable in the immunodiffusion test. Similar extracts prepared from uninfected cultures did not contain these antigens.

INDEX TERMS: Aujeszky's disease, virus, isolation, swine, Santa Catarina.

SINOPSE.- De abril de 1983 a dezembro de 1985, 18 amostras do vírus da doença de Aujeszky (VDA) foram isoladas do cérebro de leitões (17 amostras) e de um cão que apresentavam sintomatologia nervosa. Os vírus foram isolados em culturas primárias de fibroblastos de embrião de galinha ou em uma linhagem celular contínua derivada de rim de suíno. A identificação dos agentes isolados foi realizada utilizando-se os testes de imunofluorescência (IF) direta em lamínulas e de vírus neutralização (VN) em microplacas com soros de referência específicos para o VDA. As 18 amostras induziram efeito citopático típico de vírus herpes observado a partir de 24 horas após a inoculação e caracterizado pelo arredondamento e alta refratividade das células afetadas. O teste de IF direta, mostrou fluorescência intensa das monocamadas inoculadas com suspensões cerebrais de 10% e 1%, enquanto que, as suspensões a 0,1% permitiram a formação e visualização de placas fluorescentes rodeadas de áreas opacas de células não infectadas. A presença do VDA foi também confirmada no teste VN realizado com a ter-

ceira passagem das 18 amostras isoladas. Efeito citopático característico de vírus herpes foi observado nas culturas inoculadas com mistura das amostras virais e soro de referência negativo, enquanto que, as culturas inoculadas com mistura das mesmas amostras virais e soro de referência positivo não desenvolveram efeito citopático. Extratos preparados tanto da fração celular como dos fluídos das culturas infectadas continham dois antígenos, os quais foram evidenciados no teste de imunodifusão. Extratos preparados de culturas não infectadas não continham esses antígenos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Doença de Aujeszky, vírus, isolamento, suínos, Santa Catarina.

INTRODUÇÃO

A doença de Aujeszky (DA) ou Pseudorabia, é uma enfermidade infecto-contagiosa causada por um vírus herpes, o vírus da doença de Aujeszky (VDA), que afeta a maioria dos animais domésticos e cujo hospedeiro natural é o suíno. Tanto a infecção como a doença tem sido reconhecidos nos cinco continentes, causando perdas econômicas consideráveis, principalmente em suínos e bovinos (Gustafson 1981).

¹ Aceito para publicação em 1 de julho de 1986.

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

No Brasil, a doença foi descrita pela primeira vez em 1912 por Carini & Maciel, e, desde então, tem causado infecções fatais esporádicas em alguns estados da Federação (Carneiro 1950, Silva & Döbereiner 1960 e Hipólito et al. 1960/61).

A DA, tem sido diagnosticada em alguns plantéis de suínos no Estado de Santa Catarina, causando 100% de mortalidade em leitões afetados com menos de duas semanas de idade.

No presente trabalho, descrevemos o isolamento e a identificação de 18 amostras do VDA, 17 de leitões e uma de um cão que morreu nas proximidades de uma granja onde estava ocorrendo um surto.

MATERIAL E MÉTODOS

Culturas celulares

Culturas primárias de fibroblastos de embrião de galinha (FEG) foram preparadas segundo a técnica descrita por Solomon (1975). Os ovos eram oriundos do plantel de aves livres de patógenos aviários (Plantel SPF) do Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves (CNPISA), Embrapa, Concórdia, SC. A linhagem contínua correspondia a células derivadas de rim de suíno e denominada de SK-6 (Kasza et al. 1972). O meio de crescimento para ambas culturas consistiu de uma mistura em partes iguais dos meios Ham F10 e 199 contendo 4% de soro bovino, penicilina G, potássica cristalina (200 U/ml), sulfato de neomicina (20 µg/ml), sulfato de gentamicina (20 µg/ml), e micostatina (50 U/ml). O meio de manutenção era idêntico mas continha apenas 1% de soro bovino.

Amostras para isolamento viral

Encéfalos de leitões de até duas semanas de idade e de um cão, todos com histórico de distúrbios do sistema nervoso central, foram obtidos entre os meses de abril de 1983 e dezembro de 1985, de plantéis suínos onde estavam ocorrendo surtos de doença infecciosa aguda. Os plantéis estavam localizados nos municípios de Faxinal dos Guedes, Ipumirim, Itapiranga, Seára, Xanxerê e Xavantina no Estado de Santa Catarina.

Preparação dos inóculos

Porções de encéfalo correspondentes ao bulbo olfatório, a ponte cerebelar e a medula oblonga foram esmagadas em triturador de Ten-Broeck, em nove partes (volume : volume) de salina tamponada com fosfatos (PBS) para se obter suspensões a 10%, e centrifugadas a 2500 rpm por 10 minutos. Ao sobrenadante colhido foram adicionadas 1000 U de penicilina G potássica cristalina, 20 µg de sulfato de neomicina, 20 µg de sulfato de gentamicina e 50 U de micostatina por mililitro. A partir destas suspensões, foram preparadas suspensões a 1 e 0,1% em meio de cultura Ham F10 - 199.

Isolamento viral

Culturas celulares em lamínulas dentro de tubos de Leighton ou em garrafas de vidro ou plástico foram drenados do meio de crescimento e inoculadas com as três concentrações (10, 1 e 0,1%) das suspensões cerebrais. Após período de adsorção de duas horas, as monocamadas eram levadas com PBS, alimentadas com meio de manutenção e observadas diariamente até um máximo de uma semana para observação de efeito citopático característico de vírus herpes. Quando esse efeito era evidente, as lamínulas eram retiradas dos tubos de Leighton, lavadas em PBS, fixadas em acetona fria durante cinco minutos e a seguir submetidas ao teste de IF direta.

Soros de referência

Os soros de referência positivos e negativos utilizados na identificação dos vírus nos testes de imunofluorescência (IF) direta e vírus neutralização (VN) e de antígenos no teste de imunodifusão (ID) corres-

pondiam a soros suínos e foram obtidos do National Animal Disease Center, Ames, Iowa, USA.

Imunofluorescência

Foi utilizado o teste de IF direta (Stewart et al. 1967) empregando-se FEG ou SK-6 como células indicadoras e uma diluição adequada de soro de referência positivo (1:30) marcado com isotiocianato de fluoresceína.

Vírus neutralização

Fluídos de culturas de FEG ou SK-6, infectados com VDA foram propagados mais duas vezes quando as monocamadas apresentavam mais do que 50% de efeito citopático. Os fluídos da terceira passagem foram colhidos, clarificados por centrifugação e testados em triplicata, sem diluir e nas diluições de 10^{-1} e 10^{-2} em presença de soro positivo e negativo para anticorpos neutralizantes no teste de VN em microplacas (Hill et al. 1977).

Extração de antígenos de culturas infectadas

A terceira passagem de cada vírus isolado foi propagada em FEG cultivados em frascos de Roux e, após 24 horas, o meio de crescimento era substituído por meio de manutenção. Quando o efeito citopático era confluyente, o que acontecia geralmente entre 72 e 96 horas após a infecção, as monocamadas eram suspensas por agitação no próprio meio de cultura, o qual era clarificado por centrifugação a 2500 rpm durante 10 minutos e, a seguir, concentrado, em tubos de diálise, por imersão em polietileno glicol PM 8000. O material sólido resultante do processo de concentração era suspenso em água destilada para atingir uma concentração final de 80 vezes o volume original. O sedimento celular era suspenso em volume igual de PBS e depois de três ciclos de congelamento e descongelamento era testado paralelamente com o material preparado dos meios de cultura no teste de imunodifusão (ID). Antígenos foram também preparados dos fluídos sobrenadantes e dos sedimentos celulares de culturas de FEG não infectadas.

Teste de imunodifusão

O microteste de ID dupla em agarose previamente descrito por Gutekunst et al. (1978) foi modificado e adaptado a placas de Petri de 60 x 15 mm. O tampão utilizado correspondia a Tris (Hydroxymethyl) - aminomethan 0,05 M em pH 7,2 - 7,4, contendo 0,05% de azida sódica (NaN_3) e 0,75% de agar Difco purificado. Seis ml da suspensão de ágar foram colocados em placas de Petri e armazenados na geladeira por um período de 24 a 48 horas antes de serem utilizados. O padrão de teste era hexagonal e consistia de um orifício central e seis periféricos, cada um medindo 7 mm de diâmetro, equidistantes entre si 3 mm, entre dois consecutivos. O soro de referência positivo era colocado no orifício central e os antígenos a serem testados nos orifícios periféricos. As placas eram incubadas à temperatura ambiente e a leitura final realizada após 72 horas.

RESULTADOS

Dezessete agentes citopatogênicos foram isolados em cultivos celulares inoculados com suspensões de encéfalo de leitões que apresentaram sintomas nervosos compatíveis com a DA (Quadro 1). Um outro agente citopatogênico foi isolado do encéfalo de um cão morto com sintomas nervosos.

Em isolamento primário, o efeito citopático iniciou-se a partir das 24 horas após a inoculação e caracterizou-se pelo arredondamento e alta refratividade das células afetadas. Essa característica era típica nas culturas inoculadas com suspensões de encéfalo a 10% e 1%, geralmente apresentando entre as 48 e 72 horas, efeito citopático confluyente que se estendia por toda a monocamada, enquanto que, as culturas inoculadas com as

Quadro 1. Amostras do vírus da doença de Aujeszky isoladas de suínos no Estado de Santa Catarina de 1983 a 1985

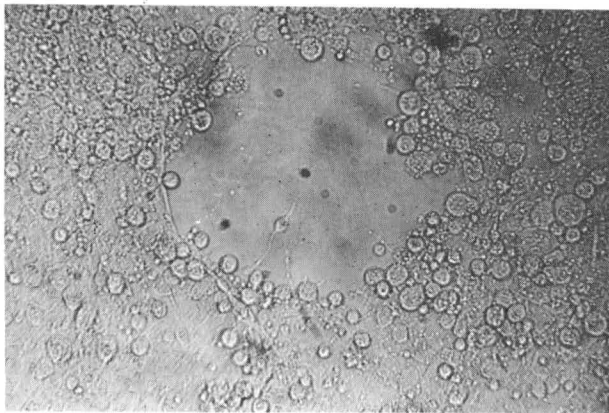
Amostra	Localidade	Granja produtora de
227/83	Ipumirim	Reprodutores
261/83	Ipumirim	Reprodutores
268/83	Ipumirim	Reprodutores
314/83	Xanxerê	Reprodutores
407/83	Xavantina	Terminados
447/83(a)	Seára	Terminados
467/83	Xanxerê	Terminados
585/83	Xanxerê	Reprodutores
607/83	Faxinal dos Guedes	Terminados
659/83	Faxinal dos Guedes	Terminados
715/83	Xavantina	Terminados
843/83	Faxinal dos Guedes	Terminados
100/84	Xanxerê	Terminados
706/84	Itapiranga	Terminados
879/84	Ipumirim	Terminados
1043/84	Itapiranga	Terminados
1044/84	Xanxerê	Terminados
81/85	Xanxerê	Terminados

(a) Amostra isolada do encéfalo de cão nas imediações de granjas de terminação.

suspensões a 0,1% apresentaram efeito citopático característico de vírus herpes, isto é, aparecimento de focos ou placas isoladas (Fig. 1). As culturas não inoculadas não apresentaram efeito citopático (Fig. 2).

O teste de IF direta permitiu a identificação dos 18 agentes citopatogênicos isolados como VDA. As culturas celulares inoculadas com as suspensões de encéfalo a 10 e 1% apresentaram fluorescência generalizada, enquanto que, aquelas inoculadas com as suspensões a 0,1%, apresentaram fluorescência intensa, apenas nas áreas correspondentes a presença de placas (Fig. 3), permanecendo as células não infectadas ao redor das placas, totalmente opacas. As células que compunham estas placas possuíam uma fluorescência intensa a nível de membrana celular, observando-se ocasionalmente, grânulos fluorescentes de localização intra citoplasmática. As culturas celulares não infectadas não apresentaram fluorescência específica e eram uniformemente opacas.

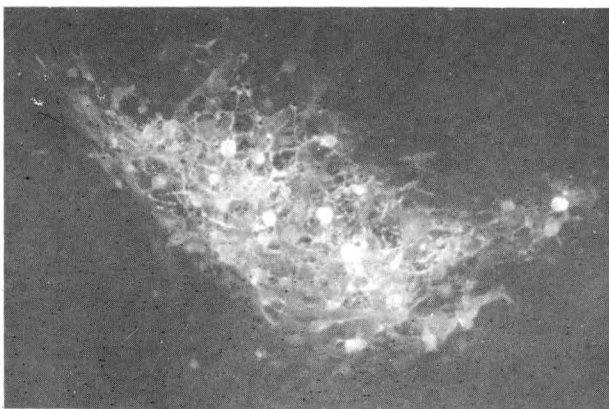
Os resultados observados com o teste de IF foram confirmados com o teste de VN. As três diluições dos 18 vírus isolados foram neutralizados em presença de soro de referência positivo, enquanto que, as três diluições dos mesmos não o foram em presença de soros de referência negativo, observando-se



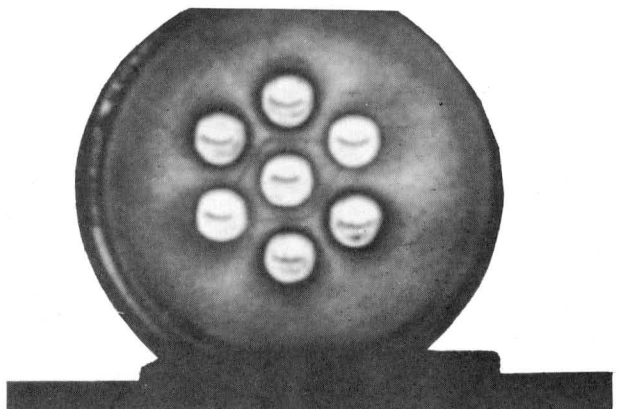
1



2



3



4

Fig. 1. Fibroblastos de embrião de galinha inoculados com a amostra 467/83 do vírus da doença de Aujeszky, mostrando placa característica de vírus herpes. Obj. 20.

Fig. 3. Fibroblastos de embrião de galinha inoculados com a amostra 227/83 do vírus da doença de Aujeszky, mostrando ao teste de fluorescência direta uma placa fortemente corada. Obj. 20.

Fig. 2. Fibroblastos de embrião de galinha não infectados. Obj. 20.

Fig. 4. Teste de imunodifusão em gel de ágar para detectar antígenos do vírus da doença de Aujeszky. Soro de referência positivo (poço central). Antígenos de culturas celulares não infectadas (poços lateral esquerdo superior e lateral direito inferior). Antígenos de culturas celulares infectadas (poços centrais superior e inferior, poço lateral superior direito e lateral inferior esquerdo).

neste último caso, efeito citopático característico de vírus herpes.

O teste de ID em gel de ágar permitiu a demonstração de dois antígenos virais, os quais foram extraídos tanto dos fluídos como das monocamadas das culturas infectadas. Estes antígenos reagiram com o soro de referência positivo formando duas linhas de precipitação (Fig. 4). Preparações similares obtidas de culturas não infectadas foram negativas.

DISCUSSÃO

Foram isoladas 17 amostras do VDA do encéfalo de leitões com histórico de sintomas nervosos e uma amostra do encéfalo de um cão com a mesma sintomatologia. A metodologia utilizada para o isolamento e a identificação das 18 amostras permitiu um diagnóstico seguro, definitivo e relativamente rápido da ocorrência da DA nas propriedades atingidas.

A técnica de IF direta realizada em lamínulas permitiu a identificação das amostras isoladas como sendo o VDA. A utilização de diluições decimais das suspensões de encéfalo facilitou a melhor interpretação dos resultados. As lamínulas inoculadas com a suspensão a 0,1% apresentaram áreas localizadas de fluorescência intensa as quais correspondiam à presença de placas, que adquiriram maior nitidez pelo fato de estarem rodeadas de células não infectadas de aparência normal e sem fluorescência.

Os testes de VN em microplacas, como realizados no presente estudo, evidenciaram o isolamento e a identificação das 18 amostras do VDA em presença de soro de referência sem anticorpos para o VDA, demonstrado pelo aparecimento de efeito citopático característico de vírus herpes. Por outro lado, em presença de soro de referência com anticorpos específicos, o efeito citopático foi completamente inibido nas diluições testadas. Apesar de não termos determinado o número de doses infectantes médias presentes em cada diluição testada, pareceria aconselhável a utilização de soro de referência com título neutralizante relativamente elevado. Estudos recentes realizados pelos autores no Laboratório de Virologia do CNPSA (resultados não publicados) indicaram que o teste de VN pode ser realizado diretamente com suspensões de encéfalo em várias diluições, podendo-se obter títulos superiores a 10^4 doses infectantes médias/g, das áreas do sistema nervoso central descritas em material e métodos. Este procedimento permite o isolamento e a identificação do VDA e fornece um diagnóstico inequívoco e definitivo em um máximo de três dias. Recentemente, foi descrito um teste de IF em impressões de faringe e cérebro para o diagnóstico rápido da DA (Allan et al. 1984), de ótima correlação com o isolamento viral. Segundo esses autores, em presença de anticorpos neutralizantes, o isolamento do VDA de faringe pode ser negativo, enquanto que em impressões da mesma, a IF pode ser positiva. No presente trabalho, as amostras do VDA isoladas originaram-se do encéfalo de animais com sintomatologia nervosa. Não se tentou, em nenhuma oportunidade, o isolamento da faringe.

Os resultados dos testes de ID com extratos de sobrenadantes e de monocamadas de culturas infectadas com as amostras isoladas demonstraram a presença de dois antígenos virais, os

quais apresentaram linhas de precipitação com identidade quando confrontados com soro de referência positivo. A negatividade dos extratos obtidos tanto dos sobrenadantes como das monocamadas de culturas similares não infectadas com o VDA, evidenciou a especificidade dos resultados.

A literatura científica publicada sobre surtos da DA no Brasil, indica que o VDA foi isolado pela última vez em 1966 do sangue periférico de um bovino com sintomas clínicos da doença (Silva & Gióvine 1966). Isolamentos prévios também realizados em coelhos e cobaias evidenciaram a presença do VDA tanto em suínos (Carneiro & Cardin 1947, Hipólito et al. 1960/61) como em bovinos (Silva & Gióvine 1961). Porém, somente em um caso foi o isolamento confirmado sorologicamente (Hipólito et al. 1960/61), através do teste de VN em cobaias.

O isolamento e a identificação das 18 amostras do VDA nos seis municípios do Estado de Santa Catarina não indica necessariamente que a infecção é de natureza endêmica uma vez que a vigilância sorológica dos plantéis de reprodutores e de terminadores suínos tem demonstrado que a frequência de ocorrência de anticorpos para o VDA no rebanho suíno do Estado é muito baixa (Romero et al. 1984, Romero et al. 1986). Como os testes de IF e VN não permitem a diferenciação de amostras do VDA, não é possível, por enquanto, afirmar se os vírus isolados correspondem a surtos epizootologicamente relacionados ou não. Com o desenvolvimento de técnicas para a análise do DNA do VDA utilizando-se endonucleases de restrição, se tornará possível rastrear epizootologicamente a ocorrência de surtos da DA (Pritchett et al. 1984).

Agradecimentos.- Agradecemos a valiosa assistência laboratorial de Auria Knaack Dartora e Ivane Müller.

REFERÊNCIAS

- Allan G.M., McNulty M.S., McCracken R.M. & McFerran J.B. 1984. Rapid diagnosis of Aujeszky's disease in pigs by immunofluorescence. *Res. Vet. Sci.* 36: 235-239.
- Carini A. & Maciel J. 1912. La pseudo-rage ou paralysie bulbaire infectieuse au Brésil. *Bull. Soc. Path. Exotique* 5: 576-578.
- Carneiro V. 1950. Distribuição geográfica e frequência da doença de Aujeszky no Brasil. *Biológico*, S. Paulo, 16 (3): 49-58.
- Carneiro V. & Cardim W.H. 1947. A doença de Aujeszky em suínos no Brasil. *Arqs Inst. Biol.*, S. Paulo, 18: 243-252.
- Gustafson D.P. 1981. Pseudorabies, p. 109-223. In: Leman A.D., Glock R.D., Mengeling W.L., Penny R.H.C., Scholl E. & Straw B. (eds). *Diseases of swine*. 5th ed. Iowa State University Press, Ames.
- Gutekunst D.E., Pirtle E.C. & Mengeling W.L. 1978. Development and evaluation of a microimmunodiffusion test for detection of antibodies to pseudorabies virus in swine serum. *Am. J. Vet. Res.* 39: 207-210.
- Hill H.T., Grandell R.A., Kanitz C.L., McAdaragh J.P., Seawright G.L., Solorzano R.F. & Stewart W.C. 1977. Recommended minimum standards for diagnostic tests employed in the diagnosis of pseudorabies (Aujeszky's disease). *Proc. 20th Ann. Meet. Am. Assoc. Vet. Lab. Diagnost.*, p. 375-390.
- Hipólito O., Silva J.M.L., Batista Junior J.A. & Nascimento Lima S. 1960/61. A doença de Aujeszky em suínos no Estado de Minas Gerais. *Arqs Esc. Sup. Vet.*, Belo Horizonte, 13: 61-67.
- Kasza L., Shaddock J.A. & Christophinis G.J. 1972. Establishment, viral susceptibility and biological characteristics of a swine kidney cell line SK-6. *Res. Vet. Sci.* 13: 46-51.

- Pritchett R.F., Bush C.E., Chang T.J., Wang J.T. & Zee Y.C. 1984. Comparison of the genomes of pseudorabies (Aujeszky's disease) virus strains by restriction endonuclease analysis. *Am. J. Vet. Res.* 45: 2486-2489.
- Romero C.H., Rowe C.A., Provenzano G.I., Flores R.S., Brentano L. & Marques J.L.L. 1984. Distribuição e prevalência de anticorpos precipitantes para vírus da doença de Aujeszky em plantéis suínos no Estado de Santa Catarina. *Pesq. Vet. Bras.* 4(4): 123-127.
- Romero C.H., Marques J.L., Rowe C.A., Flores R.M.S. & Brentano L. 1986. A situação da doença de Aujeszky no Estado de Santa Catarina em 1984. *Pesq. Agrop. Bras.* (No prelo)
- Silva R.A. & Döbereiner J. 1960. Nota sobre a doença de Aujeszky no Município de Sapucaia, Estado do Rio de Janeiro. *Arqs Inst. Biol. Animal, Rio de J.*, 3: 83-90.
- Silva R.A. & Gióvine N. 1961. Novos focos da doença de Aujeszky no Estado de Minas Gerais. I – Estudo do foco no município de Almenara. *Arqs Inst. Biol. Animal, Rio de J.*, 4: 99-104.
- Silva R.A. & Gióvine N. 1966. Novos focos da doença de Aujeszky no Estado de Minas Gerais. III – A passagem do vírus de Aujeszky pelo sangue na doença natural em bovino. *Pesq. Agropec. Bras.* 1: 71-72.
- Solomon J.J. 1975. Preparation of avian cell cultures. *Tiss. Cult. Assoc. Man.* 1: 7-11.
- Stewart W.C., Carbrey E.A. & Kresse J.I. 1967. Detection of pseudorabies virus by immunofluorescence. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 151: 747-751.

IMPORTÂNCIA DA BRAQUIGNATIA SUPERIOR NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DA RINITE ATRÓFICA EM SUÍNOS¹

JOSÉ RENALDI F. BRITO², NELSON MORES², ITAMAR A. PIFFER²,
LOURENÇO BALEN² e MARIA APARECIDA V. BRITO²

ABSTRACT.- Brito J.R.F., Mores N., Piffer I.A., Balen L. & Brito M.A.V. 1986. [Role of the superior brachygnathia in the early diagnosis of atrophic rhinitis in pigs.] Importância da braquignatia superior no diagnóstico precoce da rinite atrófica em suínos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 6(3):105-107. Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves (CNPISA), Embrapa, Caixa Postal D-3, Concórdia, SC 89700, Brazil.

The objective of this work was to determine the sensitivity (α) and the specificity (β) of the superior brachygnathia (SB) test in the early diagnosis of atrophic rhinitis (AR) in pigs. 287 crossbred pigs (LW x L), 70 days old, were examined for the presence or absence of SB and AR lesions. AR positive pigs were those which had turbinate atrophy observed in cross sections of the nose. The results obtained indicated low sensitivity ($\alpha = 0,27$) and high specificity ($\beta = 0,95$) to SB test for the early diagnosis of AR. Utilizing these parameters, the estimated prevalence was $\hat{p} = 0,2115 \pm 0,0823$, with an error of 38,91%. Thus, SB can not be used as a test in the early diagnosis of AR because of its low sensitivity and its very high level of error.

INDEX TERMS: Pigs, atrophic rhinitis, brachygnathia, diagnosis.

SINOPSE.- O objetivo deste trabalho foi determinar a sensibilidade (α) e especificidade (β) do teste de braquignatia superior (BS), com o intuito de avaliar sua eficiência no diagnóstico precoce da rinite atrófica (RA). Para isto, utilizaram-se 287 leitões cruzados (Large White x Landrace), com 70 dias de idade, os quais foram examinados quanto à presença ou ausência de BS e de lesões de RA. Considerou-se como suínos com RA positiva todo aquele que apresentava qualquer grau de atrofia dos cornetos observados em cortes transversais do nariz. Os resultados obtidos indicaram baixa sensibilidade ($\alpha = 0,27$) e alta especificidade ($\beta = 0,95$) para o teste de BS no diagnóstico precoce de RA. Utilizando-se estes parâmetros, a prevalência estimada foi $\hat{p} = 0,2115 \pm 0,823$, com um erro de 38,91%. Então, as BS não pode ser usada como um teste no diagnóstico precoce da RA, devido à sua baixa sensibilidade e ao seu alto nível de erro.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: Suínos, rinite atrófica, braquignatia, diagnóstico.

INTRODUÇÃO

Os sinais clínicos da Rinite Atrófica (RA), em animais severamente afetados, são de fácil visualização. Entretanto, em leitões jovens nem sempre a doença é evidente. Done (1972,

1970) e Bercovich & Jong (1976) sugeriram que a Braquignatia Superior (BS) poderia ser usada como um sinal indicador de RA em suínos jovens, sendo este sinal interpretado, também, por outros autores (Brassinne et al. 1976), como uma característica desta doença.

A BS é definida, também, como um defeito congênito (Duthie 1947, Bille & Nielsen 1977 e Huston et al. 1978), sendo mais frequentemente observada na raça Large White (LW) (Done 1977).

Em trabalho anterior, empregou-se a BS como um dos parâmetros para o diagnóstico clínico da RA (Brito et al. 1982a). Posteriormente, chamou atenção a falta de associação da BS com a RA, em animais das raças Landrace (L) e LW (Brito et al. 1982b).

Este trabalho tem como objetivo determinar a eficiência da BS, realizada em leitões aos 70 dias de idade, como um teste para o diagnóstico precoce da RA. Para tal, determinou-se a sensibilidade (α) e especificidade (β) do mesmo.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais experimentais

Utilizaram-se 287 leitões cruzados (LW x L) com aproximadamente 70 dias de idade, oriundos de quatro rebanhos com diagnóstico de RA.

Exame de BS

Seguiu-se à técnica descrita por Bercovich & Jong (1976). Um animal era considerado normal quando os dentes incisivos centrais inferiores se posicionavam posteriormente aos incisivos centrais superiores e portador da BS, quando estes dentes situavam-se à frente dos superiores.

¹ Aceito para publicação em 7 de julho de 1986.

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

Exame dos cornetos nasais

No espaço máximo de três dias após o exame de BS, todos os animais foram necropsiados e tiveram seus cornetos nasais examinados para a presença de RA, de acordo com procedimentos descritos por Switzer & Farrington (1975).

Sensibilidade e especificidade

Foram determinadas de acordo com Rogan & Gladen (1978). Defini-se sensibilidade (α) a probabilidade de um teste ser positivo quando aplicado a um animal doente, e especificidade (β) a probabilidade de um teste ser negativo quando aplicado a um animal sadio, sendo $\alpha = n^\circ$ de animais doentes com BS positiva/total de animais doentes e $\beta = n^\circ$ de animais sadios com BS negativa/total de animais sadios.

Conhecendo-se α e β a estimativa da prevalência (\hat{p}) pode ser estimada utilizando-se a fórmula apresentada por Rogan & Gladen (1978) $\hat{p} = \hat{t} + \beta - 1/\alpha + \beta - 1$ e $\text{var}(\hat{p}) = f(1-f)/N(\alpha + \beta - 1)^2$, onde f é a estimativa da frequência de testes positivos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com os exames de BS e das lesões de RA, nos animais dos quatro rebanhos, estão sumarizados no Quadro 1.

A sensibilidade ($\alpha = 17/63$) e a especificidade ($\beta = 212/224$) foram de 0,269 e 0,946, respectivamente. O critério mínimo para que um procedimento seja considerado um teste é que ele identifique animais doentes melhor do que a probabi-

Quadro 1. Frequência de *Braquignatia superior* e lesões nos cornetos nasais em leitões aos 70 dias de idade

Lesões nos cornetos nasais	Braquignatia superior		Total
	Presente (+)	Ausente (-)	
Presente (Afetado por RA)	17	46	63
Ausente (Sadio)	12	212	224
Total	29	258	287

lidade apenas. Nesta condição, a prevalência da doença nos indivíduos com teste positivo deve ser maior do que aquela da população. Para isto, as características do teste (α e β) devem satisfazer a seguinte expressão: $\alpha > 1 - \beta$ (Rogan & Gladen 1978). Esta condição é preenchida pelo teste de BS ($0,27 > 1 - 0,95$). Além disso, se considerarmos a prevalência da RA entre os animais que deram BS positivo ($d = 17/29 = 0,59$), observa-se que a mesma é superior àquela da amostragem total e, por consequência, da população ($p = 63/287 = 0,212$), indicando que a BS pode ser considerada um teste. O problema é saber o quanto este teste é eficiente. Conforme os conceitos de Rogan & Gladen (1978), um teste, para ser considerado bom, deve ter alta sensibilidade e especificidade. No presente teste, observou-se uma baixa sensibilidade ($\alpha = 0,27$). Na verdade, apenas um pouco mais da metade dos animais com o teste de BS positivo eram realmente portadores de lesões de RA

($d = 0,59$). Esta BS em animais sem RA, pode ser uma alteração de origem genética (Duthie 1947, Bille & Nielsen 1977, Done 1977, Huston et al. 1978). Ademais, existe significativo efeito de raça sobre o comprimento do focinho e parece não haver correlação entre esta medida e o grau de lesão nos cornetos nasais (Walters et al. 1984).

Embora a sensibilidade e a especificidade sejam consideradas duas características constantes, mesmo em rebanhos com diferentes prevalências da doença (Rogan & Gladen 1978), os resultados obtidos neste trabalho somente são válidos para rebanhos suínos oriundos do cruzamento das raças L e LW, pois há diferenças significativas entre raças, além da variabilidade que possa existir entre exames realizados por diferentes pessoas (Groenland 1984).

Um estimador da prevalência comumente usado é, simplesmente, a frequência de testes positivos (\hat{t}). Entretanto, somente quando o teste for perfeito ($\beta = \alpha = 1$), \hat{t} será igual à prevalência; caso contrário, a prevalência (\hat{p}) pode ser estimada, uma vez que α e β são conhecidos. Neste trabalho obteve-se um valor de $\hat{p} = 0,2115 \pm 0,0823$. O erro da prevalência em percentagem, definido por $100s(\hat{p})/p$, é igual a 38,91%, considerado bastante alto, indicando que a BS não é um bom teste para ser utilizado em estudos de prevalência de RA, pois este poderá subestimar ou superestimar a verdadeira prevalência da doença em uma população de suínos.

A reduzida sensibilidade do teste ($\alpha = 0,27$) mostra que a BS pode ser usada apenas como um indicador da ocorrência de RA em um rebanho de suínos cruzados (L x LW), mas não como um método eficiente para identificar precocemente (± 70 dias de idade) os animais com RA, como sugerido por Done (1972, 1979) e Bercovich & Jong (1976). Portanto, sob o ponto de vista de rebanho, a BS não pode ser considerada como um mecanismo de eliminar a doença, uma vez que, por este processo, ainda permaneceria, no rebanho, um certo número de animais com RA (46/258). Entretanto, levando-se em conta a alta especificidade do teste de BS (0,946) para animais L x LW, o mesmo poderia ser utilizado como um meio de monitorar a incidência de RA em um rebanho. Mas, considerando-se que, dentre os animais com BS aproximadamente 41% (12/29) não são portadores de RA, este procedimento pode ser antieconômico em rebanhos com alta prevalência de BS.

CONCLUSÃO

A BS não é um teste eficaz para identificar precocemente suínos (L x LW) com RA, devido a sua baixa sensibilidade ($\alpha = 0,27$).

REFERÊNCIAS

- Bercovich Z. & Jong M.F. 1976. Brachygnathia superior als klinisch kenmerk van atrofische rhinitis bij de big op enen leeftijd van ± 8 weken. Tijdschr. Diergeneeskd. 101 (18): 1011-1022.
- Bille N. & Nielsen N.C. 1977. Congenital malformations in pigs in a post mortem material. Nord. Vet. Med. 29: 128-136.
- Brassine M., Dewaele A. & Gouffaux M. 1976. Intranasal infection with *Bordetella bronchiseptica* in gnotobiotic piglets. Res. Vet. Sci. 20 (2): 162-166.

- Brito J.R.F., Brito M.A.V.P., Piffer I.A. & Freitas A.R. 1982a. Rinite atrófica dos suínos. III. Prevalência da doença e da infecção por *Bordetella bronchiseptica* em suínos de "pedigree" no Estado de Santa Catarina. Arqs. Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte, 34(1): 65-75.
- Brito J.R.F., Mores N., Balen L., Piffer I.A. & Brito M.A.V.P. 1982b. Role of the brachygnathia superior in the diagnosis of atrophic rhinitis. Proc. Int. Pig Vet. Soc. Congr., México, p. 110.
- Done J.T. 1972. Atrophic rhinitis: use of control charts for herd monitoring. Proc. 2nd Int. Pig Vet. Soc. Congr. Hannover, p. 48.
- Done J.T. 1977. Facial deformity in pigs. Vet. Annu. 17: 96-102.
- Done J.T. 1979. Herd monitoring for control of porcine atrophic rhinitis. Vet. Annu. 19: 83-88.
- Duthie R.C. 1947. Rhinitis of swine. I. Chronic atrophic rhinitis and congenital deformity of the skull. Can. J. Comp. Med. Vet. Sci. 11: 250-259.
- Groenland G.P. von. 1984. Measuring the distance between tooth edges in pigs as a way to monitor breeding farms for atrophic rhinitis. Proc. 8th Int. Pig Vet. Soc. Congr., Ghent, p. 165.
- Huston R., Saperstein G., Schoneweis D. & Leipold H.W. 1978. Congenital defects in pigs. Vet. Bull. 48(8): 645-675.
- Rogan W.J. & Gladen B. 1978. Estimating prevalence from the results of a screening test. Am. J. Epidemiol. 107(1): 71-76.
- Switzer W.P. & Farrington D.O. 1975. Infectious atrophic rhinitis. In: Dunne H.W. & Leman A.D. (eds). Diseases of swine. 4th ed. Iowa State Univ. Press, Ames, p. 687-711.
- Walters J.R., Hopper P.N., Gray J., Goodman D. 1984. Observations on factors affecting turbinate atrophy measured by radiography. Proc. 8th Int. Pig Vet. Soc. Congr., Ghent, p. 164.