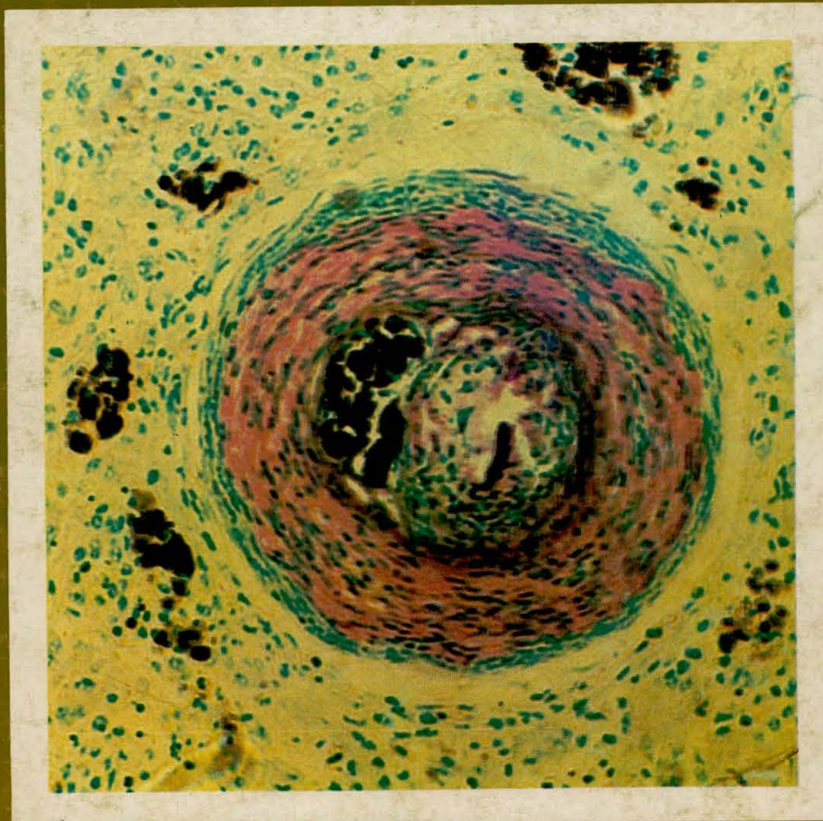


ISSN 0100-736X

Volume 8 Números 3/4
Jul/Dez 1988

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Brazilian Journal of Veterinary Research



Revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

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

Editorial Policy

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

Corpo Editorial (Editorial Board)

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

Assessoria Científica (Advisory Board)

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

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

PROGRAMA DE APOIO A PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS

M C T  CNPq  finep

A Revista conta com a colaboração da Embrapa e UFRRJ

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

Figura da capa: Granuloma tuberculóide em fígado de rã, *Rana catesbeiana*, causado por *Mycobacterium marinum*. A presença massiça do agente etiológico forma os aglomerados bacterianos álcool-ácido resistentes entre restos celulares, acúmulo de melanina e camadas concêntricas de tecido conjuntivo. Coloração de Ziehl-Neelsen, obj. 10. (Barros et al., p. 75)

Cover Illustration: Tuberculoid granuloma in the liver of a frog, Rana catesbeiana, caused by Mycobacterium marinum. There are masses of alcohol-acid fast bacteria between necrotic cells in the center and the peripheral concentric lamellae of fibrous connective tissue, besides large deposits of melanic pigment. Ziehl-Neelsen stain, obj. 10. (Barros et al., p. 75)

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

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

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

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

v. trim. ISSN 0100-736X

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

CDD 636.089

CDU 619:616(81)(05)

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

— um revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

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

Volume 8

Julho/Dezembro 1988

Números 3/4

SUMÁRIO

- Isolamento de *Chlamydia psittaci* em búfalos abatidos para consumo em Belém, Pará.** *J.A. Freitas e R.D. Machado* 43-50
- Miopatia nutricional em bovinos no Rio Grande do Sul.** *C.S.L. Barros, S.S. Barros, M.N. Santos e L.L. Metzdorf* 51-55
- Características da curva ovulatória estacional em éguas de abate na Região Sul do Brasil.** *C.A.M. Silva, J.L. Alda, J.E.C. Sá, P.R. Gadens, R.A. Esquerre e M.I.B. Rubin* 57-60
- Intoxicação experimental pelas folhas e extratos de *Thiloa glaucocarpa* (Combretaceae) em coelhos.** *C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto e J. Döbereiner* 61-74
- Surto de micobacteriose em criação de rãs (*Rana catesbeiana*) causado por *Mycobacterium marinum*.** *G.C. Barros, C.H. Langenegger, J. Langenegger e P.V. Peixoto* 75-80
- Tópico: O controle da Tricomonose e da Campylobacteriose bovinas em rebanho leiteiro v-vi

CONTENTS

- Isolation of *Chlamydia psittaci* from water buffaloes slaughtered for consumption in Belém, Pará.** *J.A. Freitas & R.D. Machado* 43-50
- Nutritional miopathy in cattle in Rio Grande do Sul, Brazil.** *C.S.L. Barros, S.S. Barros, M.N. Santos & L.L. Metzdorf* 51-55
- Characteristics of the equine seasonal ovulatory curve. A study performed in slaughtered mares from southern Brazil.** *C.A.M. Silva, J.L. Alda, J.E.C. Sá, P.R. Gadens, R.A. Esquerre & M.I.B. Rubin* 57-60
- Experimental poisoning of rabbits by the leaves and extracts of *Thiloa glaucocarpa* (Combretaceae).** *C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto & J. Döbereiner* 61-74
- Outbreak of mycobacteriosis in a frogery caused by *Mycobacterium marinum*.** *G.C. Barros, C.H. Langenegger, J. Langenegger & P.V. Peixoto* 75-80

ISSN 0100-736X

Pesq. Vet. Bras., Rio de Janeiro, v.8,n.3/4,p.43-80, jul./dez. 1988

COLÉGIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA ANIMAL
Fundado em 28 de setembro de 1978

Diretoria e Conselho 1988/92

Presidente : Jürgen Döbereiner, *Embrapa-Unidade de Apoio ao Programa Nacional de Pesquisa em Saúde Animal, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851.*

Vice Presidente : Hugo Barboza de Rezende, *Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23851.*

Primeiro Secretário : Jerome Langenegger, *Embrapa-UAPNPSA, km 47.*

Segundo Secretário : Laerte Grisi, *Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro.*

Primeiro Tesoureiro : Carlos Hubinger Tokarnia, *Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro.*

Segundo Tesoureiro : Paulo F. de Vargas Peixoto, *Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro.*

Conselheiros : Jefferson Andrade dos Santos, *Universidade Federal Fluminense, Rua Vital Brasil Filho 64, Niterói, RJ 24230*

Hermann Gonçalves Schatzmayr, *Fundação Oswaldo Cruz, Av. Brasil 4365, Cx. Postal 926, Manguinhos, Rio de Janeiro 21040.*

Ernesto Hofer, *Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro.*

SÓCIOS EMÉRITOS

em homenagem póstuma

Fúlvio José Alice
Paulo Dacorso Filho
Mário D'Apice
Octávio Dupont
Moacyr Gomes de Freitas
Antônio Francisco Matera
Wilhelm Otto Neitz
Adolpho Martins Penha
Sylvio Torres

Prezados Assinantes da "Pesquisa Veterinária Brasileira":

ATUALIZEM A SUA ASSINATURA para assegurar o recebimento da revista!

Se encontrar, neste fascículo, o carnê do Banco Bradesco, solicita-se o pagamento da importância, constante em BTN's fiscais, referente aos volumes 8(1988) e 9(1989), em qualquer de suas Agências.

Ainda dispomos de números avulsos, de todos os volumes, para completar a sua coleção ao preço de 4 BTN's por fascículo ou de 12 BTN's para cada volume (4 fascículos). Para receber estas publicações, anexe à sua carta de solicitação um cheque a favor da "Revista Pesquisa Veterinária Brasileira", enviada a esta no endereço Embrapa, Km 47, 23851 Seropédica, RJ.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

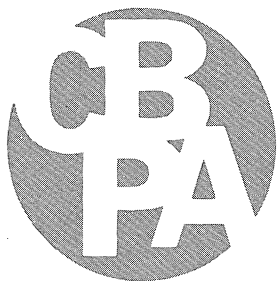
(Contatos: Dr. Carlos Alberto Costa, Brasil, tel. (061) 224-7475)

ISSN 0100-736X

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Brazilian Journal of Veterinary Research

VOLUME 8, 1988



Revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

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

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

Editorial Policy

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

Editor: Jürgen Döbereiner, *Unidade de Apoio ao Programa Nacional de Pesquisa em Saúde Animal, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851, Brasil.*

Editores Assistentes: Oswaldo Duarte Gonçalves, Cheryl Ann Rowe, Isaias A. de Oliveira

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

Assessoria Científica (Advisory Board)

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

PROGRAMA DE APOIO A PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS



A Revista conta com a colaboração da Embrapa e UFRJ

Parte do Volume foi impresso com recursos concedidos pela
Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – FAPERJ

SUMÁRIO
List of Contents

Vol. 8, Nos. 1/2, Jan./Jun. 1988

- Situação atual e perspectivas da investigação sobre nutrição mineral em bovinos no Brasil.** [Investigations on mineral nutrition of cattle in Brazil; a review.] *C.H. Tokarnia, J. Döbereiner & S.S. Moraes* 1-16
- Aspectos epidemiológicos da Leishmaniose visceral em cães de Corumbá, Mato Grosso do Sul.** [Epidemiological situation of visceral Leishmaniasis in dogs in Corumbá, Mato Grosso do Sul.] *V.L.B. Nunes, Y.Y. Yamamoto, F.A. Rego Jr., M.E.C. Dorval, E.A.B. Galati, E.T. Oshiro & M. Rodrigues* 17-21
- Reprodução da linfadenite caseosa em caprinos com pequeno número de *Corynebacterium pseudotuberculosis*.** [Reproduction of caseous lymphadenitis in goats by small numbers of *Corynebacterium pseudotuberculosis*.] *J. Langenegger & C.H. Langenegger* 23-26
- Avaliação de vacina contra linfadenite caseosa em caprinos mantidos em regime extensivo.** [Evaluation of an inactivated vaccine against caseous lymphadenitis of goats kept under extensive management.] *O.C. Ribeiro, J.A.H. Silva, P.C.C. Maia & W.G. Campos* 27-29
- Distúrbios reprodutivos em touros *Bos indicus*, *B. taurus* e mestiços, criados em clima amazônico.** [Reproductive disturbances in *Bos indicus*, *B. taurus* and crossbred bulls, in the Amazon region.] *O.M. Ohashi, J.S. Souza, H.F.L. Ribeiro & W.G. Vale* 31-35
- Botulismo enzoótico em búfalos no Maranhão.** [Enzootic botulism of water buffaloes in Maranhão, Brazil.] *J. Langenegger & J. Döbereiner* 37-42

Vol. 8, Nos. 3/4, Jul./Dez. 1988

- Isolamento de *Chlamydia psittaci* em búfalos abatidos para consumo em Belém, Pará.** [Isolation of *Chlamydia psittaci* from water buffaloes slaughtered for consumption in Belém, Pará.] *J.A. Freitas & R.D. Machado* 43-50
- Miopatia nutricional em bovinos no Rio Grande do Sul.** [Nutritional miopathy in cattle in Rio Grande do Sul, Brazil.] *C.S.L. Barros, S.S. Barros, M.N. Santos & L.L. Metzdorf* 51-55
- Características da curva ovulatória estacional em éguas de abate na Região Sul do Brasil.** [Characteristics of the equine seasonal ovulatory curve. A study performed in slaughtered mares from southern Brazil.] *C.A.M. Silva, J.L. Alda, J.E.C. Sá, P.R. Gadens, R.A. Esquerre & M.I.B. Rubin* 57-60
- Intoxicação experimental pelas folhas e extratos de *Thiloa glaucocarpa* (Combretaceae) em coelhos.** [Experimental poisoning of rabbits by the leaves and extracts of *Thiloa glaucocarpa* (Combretaceae).] *C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto & J. Döbereiner* 61-74
- Surto de micobacteriose em criação de rãs (*Rana catesbeiana*) causado por *Mycobacterium marinum*.** [Outbreak of mycobacteriosis in a frogery caused by *Mycobacterium marinum*.] *G.C. Barros, C.H. Langenegger, J. Langenegger & P.V. Peixoto* 75-80

ÍNDICE DOS AUTORES
Author Index

Alda J.L. 57
 Barros C.S.L. 51
 Barros G.C. 75
 Barros S.S. 51
 Campos W.G. 27
 Döbereiner J. 1, 37, 61
 Dorval E.A.B. 17
 Esquerre R.A. 57
 Freitas J.A. 43
 Gadens P.R. 57
 Galati E.A.B. 17
 Langenegger C.H. 23, 75

Langenegger J. 23, 37, 75
 Machado R.D. 43
 Maia P.C.C. 27
 Metzdorf L.L. 51
 Moraes S.S. 1
 Nunes V.L.B. 17
 Ohashi O.M. 31
 Oshiro E.T. 17
 Peixoto P.V. 61, 75
 Rego Jr. F.A. 17
 Ribeiro H.F.L. 31
 Ribeiro O.C. 27

Rodrigues M. 17
 Rubin M.I.B. 57
 Sá J.E.C. 57
 Santos M.N. 51
 Silva C.A.M. 57
 Silva J.A.H. 27
 Souza J.S. 31
 Tokarnia C.H. 1, 61
 Vale W.G. 31
 Yamamoto Y.Y. 17

ERRATA

Pesq. Vet. Bras. 8. 1988

Página	Coluna	Linha	Onde se lê	Leia-se
38	1ª	1ª	1902	1920
39	2ª	7ª	esteriorizada	exteriorizada

O CONTROLE DA TRICOMONOSE E DA CAMPYLOBACTERIOSE BOVINAS EM REBANHO LEITEIRO

Normalmente em um rebanho leiteiro a reprodução é controlada, pois dela depende a sua produção. Neste trabalho de rotina nem sempre é possível detectar a Tricomonose e a Campylobacteriose bovinas, pois são doenças que não demonstram sintomatologia muito clara e que podem ser confundidas com outras afecções do trato genital, que interferem na vida reprodutiva, causando repetições de cio, abortos, metrites e até infertilidade.

Uma vez presentes no rebanho é inevitável uma baixa na produção leiteira durante algum tempo, até a conclusão do diagnóstico correto e a adoção das medidas sanitárias.

Para o saneamento desses rebanhos há necessidade de um estudo prévio do plantel (histórico), para conhecimento de seus antecedentes, procurando corrigir manejo, alimentação e outros possíveis pontos de estrangulamento que poderiam ser responsabilizados como fatores de baixa fertilidade, com interferência na produção leiteira.

Quase sempre há necessidade de uma ou duas visitas do médico-veterinário às propriedades, para reconhecimento das prováveis causas de baixa fertilidade e dentre estas são relativamente frequentes a Tricomonose ou a Campylobacteriose bovinas ou então as duas atuantes, potencializando uma ou outra.

A primeira medida a ser tomada é a conscientização dos proprietários quanto a importância dessas duas doenças no plantel e o que realmente significam na produção leiteira, pois quando presentes, até 50% da produção pode deixar de ser alcançada. Eliminadas as possibilidades de outros fatores condicionantes, é importante proceder inicialmente o diagnóstico correto dessas doenças.

DIAGNÓSTICO DA TRICOMONOSE BOVINA

A Tricomonose bovina é uma doença sexualmente transmissível, parasitária, determinada por um protozoário flagelado, denominado *Trichomonas foetus*, que é transmitida pela cópula ou pelo sêmen, sendo a principal manifestação clínica, a repetição de cios a períodos irregulares e o aborto, com maior frequência em torno do 4º mês.

O diagnóstico da Tricomonose é baseado no exame direto, ao microscópio, do muco vaginal e lavado prepucial, e a presença do protozoário que se caracteriza por ser uma célula periforme com três flagelos anteriores e um posterior, e uma membrana ondulante e perfeitamente móvel, indica que o rebanho está parasitado.

Coleta de muco vaginal

Utiliza-se uma pipeta de vidro resistente, com 45 cm de comprimento e 0,9 cm de diâmetro externo, sendo uma das extremidades afunilada, para facilitar a penetração na vagina e na outra extremidade coloca-se uma pera de borracha, para a aspiração do

muco, o qual é homogeneizado em 10 ml de solução salina isotônica, acrescentando-se 0,5 g do meio Guida-Kupferberg, para garantir o transporte até o laboratório, para exame.

Coleta do lavado prepucial

Uma cânula metálica de 40 cm de comprimento por 0,4 cm de diâmetro externo acoplado a um erlenmeyer (por um tubo de borracha) contendo 60 ml de solução salina isotônica, é introduzida pelo ósculo prepucial até o fundo do saco, onde a salina é lançada para efeito de massagem em toda a extensão da verga, com a finalidade de deslocar o protozoário das criptas da pele prepucial (ponto de eleição dos protozoários). Em seguida recolhe-se o líquido (lavado prepucial) no mesmo depósito e acrescenta-se 3,0 g do meio de cultura Guida-Kupferberg para garantir a sua viabilidade até o laboratório para exame.

O material assim colhido deve ser mantido durante todo o período até o exame, em temperatura ambiente, pois qualquer refrigeração poderá ser nociva ao protozoário.

Tratamento

A erradicação da Tricomonose do rebanho depende de uma orientação perfeita ao criador sobre as medidas preventivas e de uma medicação eficaz no tratamento dos machos utilizados na propriedade.

Constatada a doença no rebanho, a primeira medida a ser tomada é a suspensão da reprodução, por 60 dias, com o afastamento dos machos em serviço.

Dar descanso sexual a todas as fêmeas como medida cautelar, procurando-se com isto, evitar a infecção de novos animais ainda não contaminados e, ao mesmo tempo, tentar a recuperação daquelas portadoras do protozoário.

Neste período, dever-se-á tratar os touros de alto valor zootécnico que se encontravam em serviço, sendo os demais eliminados para o corte.

No tratamento dos machos sugere-se dois processos, que são eficientes e de fácil aplicação:

Tratamento por via oral. Emprega-se o EMTRIL (Dimetridazol) produto fabricado pelo Laboratório Rhodia, na dose de 15 g para cada 100 kg de peso vivo, durante 5 dias consecutivos. Repetir o tratamento 15 dias após, na mesma dosagem e período de aplicação.

Tratamento tópico. Neste processo a aplicação é feita diretamente sobre o prepúcio e a verga, através de massagens para disseminação do medicamento sobre as criptas da pele prepucial. Usando-se esse tipo de tratamento há necessidade de se proceder a exposição da verga, através anestesia epidural, dos nervos pu-

dedos internos, ou aplicando-se substâncias que tenham ação relaxante sobre o músculo retrator do pênis como, por exemplo, produtos a base de acepromazina.

Os medicamentos recomendados são pomadas a base de Tripaflavina a 1% ou a 1% em veículo não gorduroso, indicando-se a Helioflavina ou a Bovoflavina, respectivamente.

Recomendamos dois tratamentos com intervalos de 15 dias entre eles, para evitar que os protozoários que tenham sido poupados no primeiro, por má aplicação do medicamento ou por falta de completa exteriorização do pênis no momento do tratamento, venham a se desenvolver, mantendo a doença no animal.

O êxito do tratamento e da profilaxia descritos, dependem exclusivamente dos procedimentos adotados e da responsabilidade de seu executor.

DIAGNÓSTICO DA CAMPYLOBACTERIOSE BOVINA

A Campylobacteriose bovina é uma doença infecciosa, venérea, determinada por uma bactéria denominada *Campylobacter fetus*, e como na Tricomonose bovina, é transmitida pela cópula ou pelo sêmen, produzindo repetições de cio a períodos irregulares, aborto com maior frequência no 6º mês de gestação, metrites, retenção de placenta e, finalmente, esterilidade enzoótica. O diagnóstico da Campylobacteriose (Vibriose) é baseado no isolamento do germe do material proveniente das secreções uterinas ou do esmegma prepucial.

Na impossibilidade do exame bacteriológico para o isolamento do germe, utiliza-se o teste de muco-aglutinação lenta, que possibilita um maior número de exames, com maior rapidez e com menor custo.

Coleta do esmegma prepucial

Para a coleta do esmegma prepucial utiliza-se uma pipeta de inseminação artificial que é introduzida pelo ósculo prepucial até o fundo do saco e com o auxílio de um bulbo de plástico procede-se a sucção do esmegma.

Antes da introdução da pipeta toma-se o cuidado com a higiene do local, procedendo-se a lavagem com água e sabão.

O material coletado deve ser colocado em meio especial de cultura para transporte, que é o meio de Neil, e mantido em temperatura ambiente até a entrega ao laboratório para exame.

Coleta das secreções uterinas

A secreção uterina é coletada com o auxílio do Aparelho de Frank, o qual permite a coleta assepticamente, possibilitando o isolamento sem grandes dificuldades, por ser *Campylobacter fetus* um germe muito exigente nos crescimentos iniciais.

Como rotina, em toda coleta de material, deve-se observar os cuidados de higiene, antes e depois da introdução do aparelho de Frank, pois desta manobra depende o êxito da operação.

O material coletado deve ser semeado no meio de Neil e conservado em temperatura ambiente até chegar ao laboratório para exame.

Coleta de muco vaginal para teste de muco-aglutinação lenta

O muco é coletado depositando-se um tampão de gaze no fundo de saco vaginal, com o auxílio de um espéculo que se deixa no mínimo 20 minutos na vagina, para maior absorção do muco.

O tampão de gaze com o peso de um grama é fixado em um cordel com aproximadamente 50 cm de comprimento, para facilitar o recolhimento após o tempo de permanência na cavidade vaginal.

Um frasco receptor destinado ao recolhimento do tampão de gaze é adremente pesado no laboratório junto com o tampão de gaze, para obter-se exatamente o peso do muco coletado.

Os frascos receptores contendo os tampões de gaze, devem ser conservados a 4°C até a entrega ao laboratório para realização dos exames.

No saneamento de um rebanho, a identificação exata do agente etiológico e dos animais infectados é muito importante, não só para avaliação da extensão, como proceder no tratamento correto, evitando-se gastos supérfluos com medicamentos inadequados.

Os exames bacteriológicos e imunológicos devem ser feitos em laboratórios especializados.

Tratamento

Diagnosticada a Campylobacteriose bovina no rebanho, as primeiras medidas de controle e profilaxia consistem em suspender-se a reprodução e afastar-se os touros da monta livre, procurando-se o tratamento adequado para o combate da Campylobacteriose.

Antibioticoterapia. Todos os animais que apresentarem falhas de reprodução, endometrites, abortos e retenções de placenta, inclusive os machos, devem ser tratados com Streptomicina veterinária, na dose de 10 mg por kg de peso vivo, durante 10 dias consecutivos, por via intramuscular.

Concomitantemente as fêmeas que apresentarem problemas reprodutivos devem sofrer lavagens uterinas com o mesmo produto, dissolvendo-se um frasco de 5 g em 40 ml de água destilada ou filtrada e fervida, efetuando-se 4 lavagens com intervalos de 3 dias entre elas, com o fim de completar o tratamento parenteral.

Os machos receberão quatro lavagens prepuciais com o mesmo produto, dissolvendo-se um frasco de 5 g em 30 ml de água destilada ou filtrada e fervida, com intervalo de 3 dias entre cada aplicação.

Vacinação. A vacinação dos animais, machos e fêmeas, é considerada o processo mais fácil e menos oneroso para o criador, pois com o seu uso continuado na propriedade, a tendência é o desaparecimento da doença no rebanho. A vacina é preparada com germes isolados no Brasil (autóctones), proporcionando uma imunidade relativamente satisfatória, protegendo os animais contra o aborto e evitando as falhas de concepção. Aconselha-se a vacinação das novilhas 60 dias antes de entrar em serviço e 30 dias após a primeira aplicação; uma nova dose de reforço é recomendada. Posteriormente, as vacinações devem ser aplicadas anualmente como dose de reforço, contribuindo assim para o desaparecimento da doença no plantel.

As doses recomendadas são de 5 ml por via subcutânea profunda, com o fim de evitar o aparecimento de pequeno edema no ponto de inoculação.

CONSIDERAÇÃO GERAL

Como medida profilática mais eficaz, aconselha-se o uso da inseminação artificial, partindo-se de sêmen de boa procedência e de Centrais de Inseminação Artificial com idoneidade comprovada, com o intuito de erradicar as doenças do plantel.

HELIO GUSTAVO GUIDA

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

ISOLAMENTO DE *Chlamydia psittaci* EM BÚFALOS ABATIDOS PARA CONSUMO EM BELÉM, PARÁ¹

JOSÉ DE ARIMATÉIA FREITAS² e RAIMUNDO DIOGO MACHADO³

ABSTRACT.- Freitas J.A. & Machado R.D. 1988. [Isolation of *Chlamydia psittaci* from water buffaloes slaughtered for consumption in Belém, Pará.] Isolamento de *Chlamydia psittaci* em búfalos abatidos para consumo em Belém, Pará. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 8(3/4):43-50. Depto Patologia Med. Vet. Preventiva, Fac. Ciênc. Agrárias do Pará, Cx. Postal 917, Belém, PA 60000, e Depto Virologia, Centro Ciênc. Saúde, Univ. Fed. Rio de Janeiro, 21944 Rio de Janeiro, Brazil.

A *Chlamydia* agent was isolated from 14 (70%) samples of organs and carcasses of slaughtered water buffaloes identified as *Chlamydia* by its morphological and staining characteristics, its pathogenic effect on chicken embryos. It was characterized as *Chlamydia psittaci* by the direct immunofluorescence test. In the isolation experiment, the serial passages system of inoculation from organs to the yolk sac of embryonated chicken was used, and 3 passages were made for each sample. The identification and characterization of isolates were made by the observation of typical cytoplasmic inclusions in smears of the yolk sac membrane of embryos after inoculation and impressions of lesioned organs, stained by Giemsa, Macchiavello and Castañeda methods and by the fluorescence antibodies technique. Twenty samples of organs and carcass of water buffaloes that presented inflammation of the serosa in one or more of the lungs, liver and heart were studied. The lung was the organ with greatest number of isolates (8), followed by brain (6), liver (5) and heart (2). A significant correlation between the macroscopic lesions and the positive fluorescence of the agent in the correspondent inoculum was observed in the lung.

INDEX TERMS: *Chlamydia psittaci*, Chlamydiaosis, poliserositis, water buffaloes.

SINOPSE.- Um agente clamidiano foi isolado de 14 (70%) amostras de órgãos e carcaças de bubalinos abatidos para consumo e identificado como *Chlamydia* através de suas características morfológicas, tintórias e efeito patogênico para o embrião de galinha e caracterizado como *Chlamydia psittaci* no teste de imunofluorescência direta. No isolamento foi utilizado o sistema de passagens seriadas de inóculos de órgãos no saco vitelino de ovos embrionados de galinha tendo sido executadas três passagens para cada amostra. A identificação e caracterização dos microrganismos isolados foi feita através de observação de inclusões citoplasmáticas típicas em esfregaços de membrana vitelina de ovos embrionados pós-inoculação e em impressões de órgãos lesados, corados pelo método de Giemsa, Macchiavello e Castañeda, e através do teste de imunofluorescência para *Chlamydia psittaci*. Foram estudadas 20 amostras de órgãos e carcaça de bubalinos que apresentavam processo de inflamação de serosa em um ou mais dos seguintes órgãos - pulmão, coração e fígado. O pulmão foi o órgão do qual se obteve maior número de isolados 8, seguido do cérebro, 6, fígado, 5 e coração 2. No caso do pulmão observou-se uma significativa correlação entre as lesões

macroscópicas destes órgãos estudados e a imunofluorescência positiva para o agente, nos inóculos correspondentes.

TERMS DE INDEXAÇÃO: *Chlamydia psittaci*, clamidiose, polisserosite, búfalo.

INTRODUÇÃO

Sabe-se que a bubalinocultura é um dos mais importantes setores da economia amazônica, notadamente no Estado do Pará (Nascimento et al. 1979). Embora a espécie seja apontada como uma das mais resistentes às enfermidades que acometem outros animais, verifica-se considerável perda quando, a nível de abate e inspeção higiênico-sanitária nos matadouros de Belém, são condenados e eliminados parte da carcaça e órgãos, por apresentarem alterações que caracterizam um quadro de inflamação de serosas.

As lesões observadas apresentam características anátomo-patológicas compatíveis com aquelas produzidas pela espécie denominada *Chlamydia psittaci*, microrganismo pertencente ao gênero *Chlamydia*, antigamente denominado vírus do grupo psitacose-lymfofagocitoma, venéreo-tracoma (Storz 1971). De acordo com Storz (1968), Storz (1971), Schachter et al. (1973), Pienaar & Schutte (1975) e Foggie (1977) este microrganismo está relacionado com doenças dos animais domésticos, entre os quais

¹ Aceito para publicação em 20 de outubro de 1987.

Parte do trabalho de Tese de Mestrado do 1º autor, submetido à Universidade Federal Fluminense em setembro de 1986.

² Departamento de Patologia e Medicina Veterinária Preventiva, Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, Cx. Postal 917, Belém, Pará 60000.

³ Departamento de Virologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ 21944.

mamíferos e aves, como pneumonias, enterites, abortos, conjuntivites, encefalites e poliartrites e segundo Morange (1895), citado por Storz (1971), com doença de caráter zoonótico, a psitacose; York & Baker (1951), Bannister et al. (1962) Wilson & Thomson (1968), Harshfield (1970), Moorthi & Spradbrow (1978) incriminaram *C. psittaci* como agente causador de doenças de animais domésticos; por outro lado Pienaar & Schutte (1975) descreveram-na como agente de alterações em diversos órgãos, tecidos e sistemas; entretanto são raros os informes a respeito do papel da clamídia como agente etiológico de doença de bubalinos; os registros da literatura reportam-se mais a ocorrência de anticorpos anti-clamídia no soro destes animais (Schmatz et al. 1978, Hafez & Krauss 1979, Dhingra et al. 1981). Entre bubalinos *C. psittaci* foi demonstrada ser o agente etiológico de doenças como a encefalomielite esporádica conforme Ognyanov et al. (1974), pneumonia segundo Gupta et al. (1976) e de aborto descrito por Abilgasanov (1983).

O primeiro isolamento de clamídia de animais domésticos foi obtido por York & Baker (1951), posteriormente *C. psittaci* foi isolada por Menges et al. (1953), Kolb & Psota (1968), Moorthi & Spradbrow (1978) de animais domésticos em diferentes condições de saúde. Na maioria das vezes os isolamentos obtidos de bubalinos são provenientes de animais abatidos clinicamente normais (Singh & Malik 1969, Gupta et al. 1976, Dhingra et al. 1980). Entretanto Ognyanov et al. (1973, 1974) relataram surtos de encefalomielite esporádica e amostra procedente de um búfalo africano de vida livre foi descrita por Rowe et al. (1978).

O isolamento de clamídia de materiais procedentes de processo infeccioso com alterações macroscópicas de órgãos, envolve a utilização de sistema apropriado de cultivo entre os quais o embrião de galinha, o cobaio, o camundongo e o cultivo celular (Storz 1971, Schachter & Dawson 1979). O embrião tem sido o sistema mais apropriado para o cultivo deste microrganismo, mas segundo Storz (1971) independentemente do sistema utilizado, a identificação do agente clamídioso, requer a observação de inclusões citoplasmáticas típicas, a análise do comportamento do agente no hospedeiro utilizado e a demonstração de antígeno grupo-específico no teste de fixação do complemento; na identificação dos isolados obtidos do teste de anticorpos fluorescentes tem sido, por outro lado, amplamente aceito e empregado, por ser gênero-específico (Ross & Borman 1963, Lewis et al. 1972, Vera & Dumoff 1974, Dvorakova 1979).

A condenação de órgãos de bubalinos abatidos acometidos deste processo inflamatório é preocupante, face aos prejuízos financeiros atribuídos ao produtor. Por outro lado Storz (1971) e Shewen (1980) consideram as clamidioses como importante problema de saúde dos animais domésticos, afetando órgãos e sistemas, causando distúrbios na reprodução. Não havendo registro no País, até a presente data, de ocorrência de doenças produzidas por *Chlamydia psittaci* nem de isolamento do microrga-

nismo de órgãos provenientes de animais domésticos. Objetivou-se apresentar a presente contribuição para o esclarecimento e solução do problema observado entre bubalinos.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Foram empregadas para o isolamento amostras de órgãos e carcaças de 20 bubalinos abatidos para consumo em Belém, Estado do Pará. Eram selecionados os animais que apresentassem alteração de serosa nos pulmões, ou no coração ou no fígado. Para o isolamento foram colhidos assepticamente fragmentos dos órgãos referidos e mais do cérebro e medula correspondentes, conservados em temperatura de refrigeração, transportados para o laboratório e mantidos a -20°C (Wilson & Thomson 1968).

Isolamento

Como sistema de isolamento foi feita a inoculação de suspensão de órgãos, no saco vitelino de ovos embrionados de galinha com 6-8 dias de vida embrionária, provenientes de aves saudáveis e que não receberam ração, contendo os antibióticos convencionais (Storz 1971).

A técnica empregada foi aquela descrita por Wilson & Thomson (1968) com algumas modificações, adotando-se ainda as recomendações de Hanna et al. (1974), Schachter & Dowson (1979) e Carter (1979).

Cada fragmento de órgão, isoladamente, era triturado em gral e pistilo estéreis, utilizando-se como diluente, solução salina balanceada de Earle (Rovozzo & Burke 1973, Vera & Dumoff 1974) contendo antibióticos (Moorthi & Spradbrow, 1978, Schachter & Dowson 1979, Dhingra et al. 1980) e era centrifugado 3 vezes a $700 \times \text{g}$ (2.200 rpm) durante 30 minutos em centrífuga refrigerada, para a obtenção de suspensão do órgão correspondente e diluições decimais sucessivas de 10^{-2} e 10^{-3} . A conservação foi feita em geladeira por uma noite, para inoculação no saco vitelino. Para cada material foram inoculados pelo menos três ovos embrionados, em volume de 0,2 ml, sendo os ovos incubados a $35,5 - 36,5^{\circ}\text{C}$ durante 12 dias e observados diariamente para constatação de motilidade dos embriões.

Com a suspensão obtida dos embriões que permaneceram vivos até o 12º dia pós-inoculação, eram feitas duas inoculações subsequentes, sub-passagens (Hanna et al. 1974, Schachter & Dowson 1979), de acordo com o procedimento anterior, e aqueles que mostraram vitalidade na segunda sub-passage eram considerados negativos. Os embriões mortos nas respectivas passagens eram colhidos, assepticamente, para a execução de esfregaços de membrana de saco vitelino destinados à identificação do agente.

A esterilidade dos inóculos empregados frente a germes contaminantes secundários foi testada, paralelamente ao isolamento, em meio de tioglicolato, bacto-fluid thioglycolate medium Difco 0256 (Hanna et al. 1974, Schachter & Dowson 1979) agar-Sabouraud com 2% de glucose (Merck, 10.130) acidificado, para a presença de fungos contaminantes.

Identificação morfológica-tintorial

As características morfológicas e tintoriais do agente presuntivo foram identificadas em impressões de órgãos utilizados no isolamento e nos esfregaços de membrana de saco vitelino dos ovos com embriões mortos pós-inoculação nas passagens respectivas e corados por técnicas de Giemsa, Macchiavello & Castañeda (Carter 1979).

Imunofluorescência

Na identificação do agente presuntivo através de pesquisa de anticorpos fluorescentes seguiram-se as disposições recomendadas por Riggs (1979) e escolheu-se o método de imunofluorescência direta por ser o mais simples e o menos sujeito a reações e falso-interpretações (Riggs 1979), empregando-se soro hiperimune cedido pelo "Central Veterinary Laboratory" da Inglaterra, conjugado com isotiocianato de fluorescência e como controle soro negativo para *Chlamydia trachomatis* conjugado com fluoresceína; o contraste para fluorescência inespecífica foi obtido com azul de Evans (Nichols & McComb 1962), Nichols et al. 1963); o exame de esfregaços e de impressões foi feito ao microscópio Zeiss equipado com lâmpada HBO-200W, filtro excitador BG-12, filtro de calor GG-13 e filtro de barragem K-510, objetiva de 10x e 40x e ocular de 10x.

RESULTADOS

Os resultados alcançados no experimento de isolamento e na identificação do agente presuntivo estão resumidos nos Quadros 1 e 2.

Os resultados obtidos neste estudo evidenciaram o isolamento da *Chlamydia* em 14 (70%) amostras das 20 utilizadas no experimento (Quadro 1), identificado como sendo a espécie *Chlamydia psittaci* com base nas características morfológico-tintoriais (Quadro 2), teste de imunofluorescência direta (Quadro 2) e na análise da passagem

Quadro 1. Passagem seriada de homogenizados de órgãos em saco vitelino de embriões de galinha (diluição 10^{-3} , volume de 0,2 ml) nos isolamentos positivos de *Chlamydia psittaci* de bubalinos abatidos para consumo em Belém acometidos de polisserosite

Animal nº	Inóculo empregado	Passagem seriada	Nº de embriões mortos	Dias de morte pós-inoculação	Isolamento de <i>C. psittaci</i>
01	Pulmão	Primeira	01	12	+ ^d
	Fígado	Primeira	01	12	+
02	p ^a	P	P	P	
03	P	P	P	P	
04	P	P	P	P	
05	Fígado	Sub-pas ^c 2	01	09	+
06	- ^b	-	-	-	
07	Fígado	Primeira	02	07	+
08	Encéfalo	Sub-pas 2	02	10	+
09	Pulmão	Primeira	02	07	+
	Encéfalo	Primeira	02	07	+
10	Encéfalo	Primeira	01	10	+
11	Pulmão	Primeira	01	11	+
	Coração	Sub-pas 1	01	11	+
12	Encéfalo	Sub-pas 1	01	06	+
13	-	-	-	-	
14	Pulmão	Sub-pas 1	01	04	+
	Coração	Sub-pas 1	01	04	+
15	Pulmão	Primeira	01	11	+
	Pulmão	Sub-pas 2	01	06	
	Encéfalo	Sub-pas 2	02	10	+
16	Pulmão	Primeira	01	12	
	Pulmão	Sub-pas 1	01	07	+
17	-	-	-	-	
18	Encéfalo	Sub-pas 2	01	06	+
19	Pulmão	Primeira	02	08	+
20	Pulmão	Sub-pas 1	02	04, 10	+
	Fígado	Sub-pas 1	01	05	+

^a Isolamento prejudicado;

^b Isolamento negativo;

^c Sub-passagem;

^d Isolamento de *Chlamydia* positivo.

Quadro 2. Identificação de isolados de *Chlamydia psittaci* através coloração de Giemsa e de imunofluorescência direta em esfregaços de membrana de saco vitelino de embriões mortos em passagens seriadas

Animal nº	Passagem seriada	Inóculo de órgão empregado			
		Pulmão	Coração	Fígado	Encéfalo
01	Primeira	+ ^a		+,-	- ^b
02	p ^c	P	P	P	P
03	P	P	P	P	P
04	P	P	P	P	P
05	Primeira	-,-	-	-	-
	Sub-pas ^d 1				
	Sub-pas 2			+	
06	Primeira	L ^e ,-		+	-;-
	Sub-pas 1		L,-	L,-	
	Sub-pas 2		-	-	
07	Primeira	-	-	+,+	-
	Sub-pas 1	L,-	-		-
08	Sub-pas	-			
	Sub-pas 2	-	-,-	L,-	L,+
09	Primeira			+	+
	Sub-pas 1	-			
	Sub-pas 2	+		-	
10	Primeira		-		+
11	Primeira	+		-,-	
	Sub-pas 1		+,-		
12	Primeira		-		-
	Sub-pas 1				L,+
13	Primeira	-	-		-
14	Primeira	-	-		-
	Sub-pas 1	L,+	L,+	-	-
15	Primeira	+,-		-	
	Sub-pas 1	-	-		+,+
	Sub-pas 2	+			+,+
16	Primeira	+	-		-
	Sub-pas 1	+	-		
	Sub-pas 2			-,-	
17	Primeira	-	-	-,-	
	Sub-pas 1				
	Sub-pas 2				
18	Primeira			-	L,+
	Sub-pas 1			-	L,-
19	Primeira	+,+	-	-	-,-L
	Sub-pas 1	-,-	-		
20	Primeira			-	-
	Sub-pas	+,+		+	

^a Identificação positiva;

^b Identificação negativa;

^c Isolamento prejudicado;

^d Sub-passagem;

^e Células lisadas.

seriada (Quadro 1) das suspensões dos órgãos em ovos embrionados; não foi obtido isolamento das amostras 6, 13 e 17, tendo sido prejudicado o isolamento das amostras 2, 3 e 4.

Dos órgãos utilizados no isolamento, o pulmão foi aquele que apresentou o maior número de isolados positivos, 8 seguido do cérebro com 6, o fígado com 5 e coração com 2 (Quadro 1).

Alguns esfregaços de membrana de saco vitelino de ovos com embriões mortos pós-inoculação mostraram células lisadas sem as típicas inclusões citoplasmáticas (Quadro 2) mas com resultados positivos no teste de imunofluorescência direta, enquanto que outras se mostraram também lisadas mas demonstraram típicas inclusões citoplasmáticas na forma de diminutos corpúsculos e resultados positivos no teste de imunofluorescência (Quadro 2), comportamento muito semelhante ao biotipo 5 de *Chla-*

mydia psittaci segundo Spears & Storz (1979) sendo consideradas positivas.

O Quadro 1 é um resumo das passagens seriadas de suspensões dos órgãos utilizados no isolamento e mostra o número de embriões e o número de dias pós-inoculação em que ocorreu a morte de cada embrião em cada amostra e respectivas passagens, nos casos positivos; pelos dados do Quadro concluiu-se que nas primeiras passagens a morte dos embriões ocorreu sempre em período superior a 6 dias e chegando mesmo a 12 dias e que, de um modo geral, nas duas passagens subsequentes, o tempo de morte de embriões pós-inoculação decresceu sensivelmente, tendo ocorrido a morte de embriões em até quatro dias, estando de acordo com o modelo de morte de embriões e o comportamento do microrganismo no hospedeiro utilizado (Storz 1971).

No que se refere à esterilidade das suspensões de órgãos empregados nas três passagens seriadas nem todos os inóculos estavam livres de microrganismos contaminantes secundários, tendo sido observado o crescimento de leveduras e fungos em inóculos de algumas amostras. Os inóculos das amostras 2, 8 e 10 mostraram o crescimento de fungo do gênero *Aspergillus*, enquanto que no inóculo da amostra 8 ocorreu também crescimento típico de bactérias; nas demais amostras não foi observado o crescimento de microrganismos contaminantes.

Identificação morfológico-tintorial

No Quadro 2 estão resumidos os resultados da identificação microscópica dos isolados, com base nas características morfológicas e tintoriais do microrganismo, empregando-se as técnicas de coloração de Giemsa, Macchiavello e Castañeda.

Nos esfregaços de membrana de saco vitelino de ovos com embriões mortos nos casos positivos, foram observadas típicas inclusões citoplasmáticas cocóides, variando desde corpúsculos puntiformes, diminutos, até corpúscu-

los maiores, isolados ou múltiplos, em aglomerados no citoplasma e longe do núcleo (Fig. 1). Nas células lisadas foram observadas, em alguns casos, inclusões puntiformes, diminutas, isoladas e condensadas, típicas de corpúsculos elementares. Os melhores resultados foram observados nas preparações coradas pelo método de Giemsa, nas quais as inclusões coraram-se de azul à púrpura.

Nas impressões de órgãos lesados foi extremamente difícil observarem-se inclusões citoplasmáticas típicas, exceção feita para a impressão de pulmão da amostra 2, que demonstrou típica inclusão madura de *C. psittaci* corada de púrpura pelo método de Giemsa, na forma de meia lua em volta do núcleo de um monócito e que também demonstrou fluorescência positiva.

Teste de imunofluorescência

Os resultados da identificação dos isolados através de imunofluorescência estão resumidos no Quadro 2. De acordo com os dados deste Quadro o teste de imunofluorescência, que é gênero-específico, revelou a presença de antígeno grupo-específico para clamídia (Fig. 2) em inóculos de órgãos de 14 amostras. As impressões de órgãos das amostras 1, 2, 4, 5, 6, 8 e 11, revelaram-se positivas no teste de imunofluorescência.

O teste de imunofluorescência mostrou ainda resultados positivos em esfregaços contendo células lisadas e cujas inclusões não eram perfeitamente visíveis e distinguíveis e naquelas que mesmo lisadas, mostraram claramente os típicos corpúsculos elementares, corados em azul pelo método de Giemsa.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Historicamente, os microrganismos agora identificados como clamídia foram associados com doenças humanas denominadas linfogranuloma venéreo e tracoma e desde a identificação há mais de 60 anos de inclusões específicas

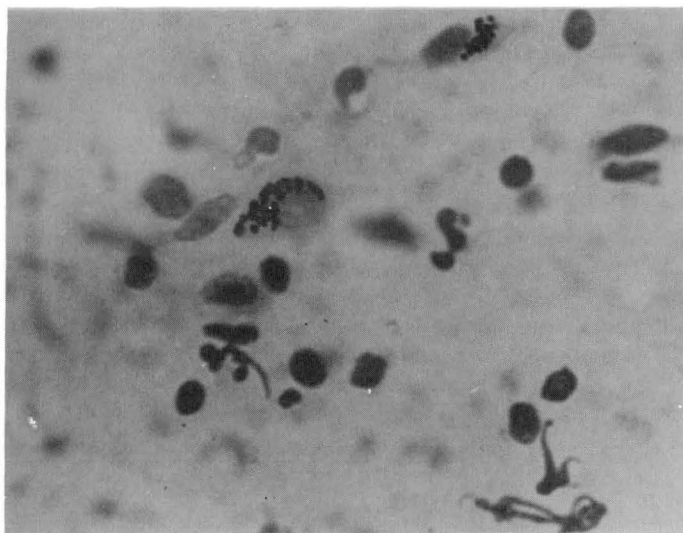


Fig. 1. Esfregaço de membrana de saco vitelino com inclusões citoplasmáticas típicas de *Chlamydia trachomatis* formadas por corpúsculos elementares ao redor dos núcleos. Coloração de Giemsa, obj. 40.

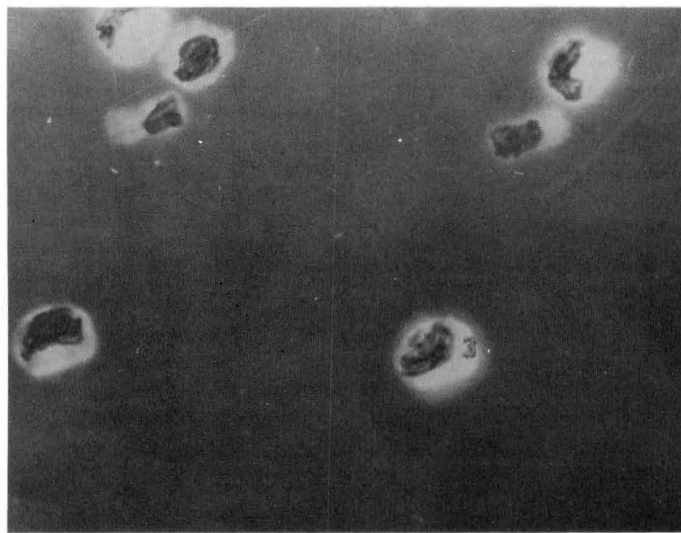


Fig. 2. Imunofluorescência característica de *Chlamydia trachomatis* no citoplasma e ao redor do núcleo de esfregaço de membrana de saco vitelino. Obj. 40.

em raspados de conjuntiva de pacientes portadores de tracoma, os agentes clamidianos foram encontrados infectando naturalmente um grande número de espécies de aves e mamíferos e foram isolados de casos de doenças distintas do homem e de diversas outras espécies de mamíferos e aves (Storz 1971). No presente experimento também foi obtido o isolamento de agente clamidiano em órgãos de bubalinos acometidos de polisserosite, sendo que os isolados obtidos (Quadro 1) apresentaram características morfológicas e tintoriais (Quadro 2) indistinguíveis daquelas do gênero *Chlamydia* e demonstraram antígeno grupo-específico no teste de imunofluorescência.

O microrganismo isolado foi identificado como *Chlamydia psittaci* através de observação de inclusões citoplasmáticas típicas nos esfregaços de saco vitelino de ovos embrionados de galinha e da prova de imunofluorescência direta, empregando-se inóculos originais e material de sub-passagens em ovos tratados com antibióticos, obedecendo-se, em parte, ao critério recomendado por Storz (1971); foi também considerado o período de 4 a 12 dias pós-inoculação para verificação da viabilidade dos embriões.

Foram obtidos isolamentos do microrganismo na primeira passagem de alguns inóculos de órgãos, enquanto que com outros inóculos a positividade só foi obtida a partir das passagens cegas (Foggie 1977). Os embriões mortos nas passagens seriadas mostraram lesões e alterações bastante típicas, entre as quais pernas e pés cianóticos, vasos sanguíneos dos sacos vitelinos congestos, em alguns casos embriões muito avermelhados, indicadores úteis segundo Storz (1968, 1971) para este sistema de isolamento.

Um grupo de amostras não demonstrou corpúsculos elementares claramente identificáveis nos esfregaços de saco vitelino mas foi sorologicamente positivo no teste de imunofluorescência direta (Quadro 2), o qual segundo Jones (1974) é mais sensível que a coloração por Giemsa, algumas das inclusões sendo clássicas corpúsculos iniciais dos quais alguns não eram visíveis na coloração pelo método de Giemsa; localizavam-se centralmente em relação ao núcleo ou como formas livres no citoplasma e representavam imunofluorescência específica dos estágios iniciais não suscetíveis de serem reconhecidos pelo método de Giemsa (Nichols et al. 1963).

Alguns esfregaços de membrana de saco vitelino mostraram células lisadas contendo, às vezes, inclusões pequenas, arredondadas, comportamento muito semelhante ao biotipo 5 de *Chlamydia psittaci* sugerido por Separs & Storz (1979) e apresentando estes esfregaços resultados positivos para antígeno grupo-específico para clamídia no teste de imunofluorescência.

Os isolados obtidos, muito embora não tenham sido analisados, de modo completo, quanto ao modelo de morte do embrião conforme Storz (1971) demonstraram nas passagens seriadas uma diminuição do tempo de sobrevivência do embrião pós-inoculação (Quadro 1), principalmente em relação a certas amostras.

O Quadro 1 apresenta um resumo das passagens seriadas dos inóculos, o número de embriões mortos nas respectivas passagens e o período decorrido para a morte dos mesmos pós-inoculação. Observou-se que para os inóculos de um mesmo órgão, o tempo de morte dos embriões diminuiu, a cada passagem, como consequência da adaptação do organismo no embrião e a riqueza do agente infeccioso no cultivo, comportamento que atende, em parte, à análise do modelo de morte do embrião, um dos testes críticos recomendados por Storz (1971) para a identificação dos isolados de clamídia.

Alguns isolados, não demonstraram claramente uma diminuição do tempo de sobrevivência dos embriões, pois, em certos casos, os microrganismos não desenvolvem um modelo regular de letalidade do embrião e tentativas para isolar amostras originárias de linfogranuloma venéreo (LGV) tornam-se aparentes na parte final da primeira passagem ou no início da segunda passagem, a adaptação sendo vagarosa e normalmente mais de 5 passagens são necessárias (Schachter & Dowson 1979).

O pulmão foi o órgão do qual se obteve o maior número de isolados, seguido do cérebro, fígado e coração (Quadro 1); do mesmo modo, o pulmão foi o órgão que apresentou a maior frequência de lesões macroscópicas e o maior número de resultados positivos no teste de imunofluorescência, resultados coincidentes com aqueles obtidos por Bates et al. (1965) no que se refere à correlação entre as lesões macroscópicas de órgãos e a fluorescência nos esfregaços relativos aos inóculos dos mesmos.

O sistema de isolamento em ovos embrionados de galinha, empregado no caso de tracoma e de amostras procedentes de bovino, ovino, caprino, suíno e cobaio (Storz 1971) e utilizado por Singh & Malik (1969), Ognyanov et al. (1973), Ognyanov et al. (1974), Dhingra et al. (1980) no isolamento deste microrganismo procedente de bubalinos em diferentes situações, apresentou resultados excelentes neste estudo, tendo sido isolado microrganismo clamidiano de 70% das amostras estudadas.

Um agente clamidiano foi isolado em cobaio por Gupta et al. (1976), a partir de pulmão de bezerro bubalino acometido de pneumonia enzoótica e do mesmo modo, um microrganismo semelhante foi isolado por Dhingra et al. (1980) em cobaio e a partir deste, em ovos embrionados de pulmões de búfalos também com processo pneumônico. A identificação foi feita através da observação de inclusões citoplasmáticas típicas e imunofluorescência, com resultado muito semelhante àqueles obtidos neste estudo os quais, entretanto, mostraram-se superiores aos obtidos pelos pesquisadores no segundo estudo que obtiveram apenas 22% de isolamentos de 9 peças pulmonares estudadas. O mesmo agente clamidiano foi isolado por Rowe et al. (1978), em cultura de tecidos, a partir de pulmão de um búfalo africano de vida livre. Nesses casos as condições sanitárias dos animais eram diferentes daquelas observadas no presente estudo.

Agente clamidiano foi também isolado no presente experimento a partir de tecido nervoso (Quadro 1). Convém

assinalar que Ognyanov et al. (1973) também isolaram clamídia de cérebros de bezerros bubalinos em um surto de encefalomielite na Bulgária e *C. psittaci* foi também associada com outro surto de encefalomielite esporádica neste país (Ognyanov et al. 1974) afetando animais jovens e adultos. Os isolados obtidos de amostras de tecido nervoso neste experimento, eram também procedentes de animais jovens e adultos e foram correlacionados com a presença de inclusões citoplasmáticas típicas e antígenos específicos nos esfregaços dos embriões pós-inoculação de homogenados respectivos.

O isolamento de *C. psittaci* de coração e fígado de bubalinos clinicamente normais apresentando alterações de serosas compatíveis com clamidiose não foi, até a presente data, registrado na literatura, sendo os resultados deste estudo o primeiro informe a respeito do assunto; por outro lado, não foi tentado o isolamento de clamídia de outros órgãos além dos referidos neste estudo, visto que o quadro de alterações macroscópicas era muito sugestivo de polisserosite, muito embora Kolb & Psota (1968) tenham isolado em ovo embrionado na quinta passagem, o microrganismo de amostras de rins procedentes de bovinos.

Singh & Malik (1969) no experimento de isolamento de agente clamidiano de homogenados de traquéia e pulmões de búfalos concluíram que houve um progressivo aumento na mortalidade dos embriões e um decréscimo na média de sobrevivência dos mesmos a partir da segunda passagem, resultados que confirmam, ainda que em parte, aqueles obtidos neste experimento, mas deve ser levado em consideração, que os referidos autores inocularam 8 embriões em cada passagem e realizaram 7 passagens seriadas.

Ainda em comparação com o trabalho dos autores referidos acima, foi verificado que a adaptação dos agentes na presente pesquisa foi, no geral, mais rápida pois, em alguns casos positivos o tempo de sobrevivência dos embriões foi de até 7 dias, enquanto que no trabalho de Singh & Malik (1969) somente na quinta passagem é que o tempo de sobrevivência diminuiu para igual período.

No estudo da polisserosite de bubalinos foi observado, em impressão de pulmão da amostra número 2 corada por Giemsa, uma típica inclusão de *C. psittaci* que também se mostrou positiva no teste de imunofluorescência direta, mesmo sendo muito difícil a demonstração de agente, clamidiano em impressão de órgãos principalmente o pulmão (Storz 1968, 1971).

A identificação do agente clamidiano nos diversos isolados através de observação microscópica das inclusões citoplasmáticas típicas foi feita após coloração dos esfregaços de membrana de saco vitelino pelos métodos de Giemsa, Macchiavello e Castañeda, mas os melhores resultados foram aqueles observados nas preparações coradas pelo método de Giemsa. Entretanto algumas preparações coradas por este método apresentaram-se difíceis de conclusão, pois o mesmo apresenta desvantagens que incluem o fato de não revelar inclusões em áreas espessas

das preparações. Outra dificuldade é a distinção entre inclusões e artefatos conforme Nichols et al. (1963), embora ainda segundo estes pesquisadores em 15 de 106 casos, inclusões tenham sido identificadas por este método e cada um desses casos também tenha sido confirmado através de imunofluorescência. Por outro lado, de acordo com Bannister et al. (1962) e Nichols & McComb (1962), respectivamente, os corpúsculos elementares reagiram debilmente à coloração pelo método de Macchiavello e clamídia não foi evidenciada por este método na primeira passagem em nenhuma das tentativas de isolamento, ainda que a imunofluorescência do material desta passagem tivesse revelado de modo inequívoco a presença de antígeno em 10 casos.

Antígenos específicos para o grupo das clamídias foram demonstrados nos isolados através do teste de imunofluorescência (Quadro 2) que é gênero-específico, apresenta sensibilidade comparável ao teste de fixação do complemento (Ross & Borman 1963, Lewis et al. 1972) através do qual anticorpos específicos para clamídia foram demonstrados em soros de bubalinos (Ognyanov et al. 1973, Ognyanov et al. 1974, Schmatz et al. 1978, Hafez & Krauss 1979, Dhingra et al. 1981), além de inúmeras outras vantagens quando comparado com outros métodos de diagnóstico (Bauman 1973, Truzczewski & Sadowiski 1973). Do mesmo modo, antígenos específicos para clamídia foram demonstrados através de imunofluorescência em materiais de bubalinos (Rowe et al. 1978), embora o isolamento tivesse sido realizado em sistema diferente do empregado neste trabalho.

A aplicação do teste de imunofluorescência para a identificação de antígenos grupo-específico nos isolados, demonstrou resultados positivos em 14 (70%) amostras, considerados excelentes em relação a Donaldson et al. (1958) citado por Storz (1971) que obtiveram resultados desapontadores na aplicação do teste em esfregaços para o diagnóstico de clamidiose de perus e em relação a Nichols et al. (1963) que classificaram o teste de anticorpos fluorescentes como superior e mais rápido que a coloração pelo método de Giemsa ou isolamento do agente, na pesquisa de clamídia em esfregaços de conjuntiva.

O teste de imunofluorescência forneceu também resultados satisfatórios em impressões de órgãos, estando de acordo com Bates et al. (1965) que observaram uma alta correlação entre as lesões macroscópicas de camundongos e perus infectados por clamídia e a fluorescência nos esfregaços de órgãos dos animais e Bauman (1973) que demonstrou antígenos-específicos para clamídia em 21 de 24 esfregaços de diferentes órgãos de bezerros bovinos, entre os quais o pulmão. Do mesmo modo Dvorakova (1979) demonstrou uma grande quantidade de células especificamente fluorescentes em órgãos de mamíferos domésticos naturalmente infectados por clamídia. Convém assinalar que em nenhum dos trabalhos referentes à ocorrência ou isolamento do agente clamidiano em bubalino (Singh & Malik 1969, Ognyanov et al. 1973, Ognyanov et al. 1974, Gupta et al. 1976, Rowe et al.

1978, Dhingra et al. 1980), o diagnóstico e a confirmação do isolamento não incluíram o teste de imunofluorescência em impressões de órgãos lesados, empregado com relativo sucesso neste experimento.

Anticorpos específicos para clamídia em soro de bubalinos foram demonstrados, através do teste de fixação do complemento, em animais do Egito e na Índia (Schmatz et al. 1978, Hafez & Krauss 1979, Dhingra et al. 1981), porém os animais eram aparentemente normais. Em bubalinos doentes apenas Ognyanov et al. (1973) e Ognyanov et al. (1974) em surtos de encefalomielite ocorridos na Bulgária, demonstraram anticorpos específicos para clamídia.

Rowe et al. (1978) e Dhingra et al. (1980) identificaram a presença de clamídia em materiais provenientes, respectivamente, de animais aparentemente normais e com processo pneumônico empregando o teste de imunofluorescência.

A evidenciação de antígenos clamidianos em material de bubalinos acometidos de alteração patológica foi obtida neste experimento, enquanto que em outros surtos Singh & Malik (1969) isolaram agente clamidiano de homogenizados de pulmão de búfalos aparentemente saudáveis, sem confirmação imunológica dos isolados obtidos; do mesmo modo Gupta et al. (1976) também não confirmaram os achados obtidos de processo pneumônico, exigência enfatizada por Schachter & Dowson (1979), que a recomendaram como necessária para minimizar a possibilidade de resultados falso-positivos e assegurar a presença de microrganismo nas preparações examinadas. Este critério mínimo deve ser adotado ao lado da passagem em ovo embrionado com a identificação dos microrganismos isolados por imunofluorescência.

Os isolados obtidos neste experimento quando submetidos ao teste de imunofluorescência direta apresentaram resultados superiores à observação microscópica dos esfregaços corados pelo método já citados, incluindo as impressões diretas de órgãos lesados, estando isso de acordo com Nichols & McComb (1962) cujos trabalhos desenvolvidos com o agente do tracoma necessitaram, respectivamente na identificação, conforme fosse utilizado a coloração pelo método de Macchiavello ou a imunofluorescência, 3,7 e 2 passagens para confirmar o crescimento do agente citado em ovo embrionado, observando que esta era ainda superior por uma margem 2:1 em relação ao método de Giemsa. Do mesmo modo, os resultados estão de acordo com Truszczinsk & Sadowiski (1973) ao observarem que a técnica de imunofluorescência foi mais apropriada que a microscopia direta para a demonstração do agente em espécimes provenientes de bovinos. Donaldson et al. (1958) citado por Ross & Borman (1963) também usaram a técnica para a detecção da amostra JO de ornitose e concluíram que a mesma é tão eficiente quanto o teste de fixação de complemento para o diagnóstico de ornitose em perus.

No isolamento de *C. psittaci* em ovo embrionado a partir de homogeneizado pulmonares de búfalos abatidos

cl clinicamente normais, Singh & Malik (1969) confirmaram o isolamento através da observação de inclusões citoplasmáticas típicas, demonstrando também a patogenicidade do agente para o cobaio e a diminuição do tempo de sobrevivência do embrião (Storz 1971) porém os microrganismos isolados não foram testados sorologicamente para a confirmação da presença de antígeno grupo-específico.

Os dados colhidos neste estudo permitiram concluir que o microrganismo isolado a partir de material de bubalinos abatidos para consumo e acometidos de alteração de serosa, é um agente patogênico para o embrião de galinha, produz corpúsculos elementares e apresenta propriedades morfológicas, tintoriais, patogênicas e imunológicas que o colocam no grupo *Chlamydia* (Storz 1971) confirmando os achados de autores como York & Baker (1951), Singh & Malik (1969), Ognyanov et al. (1973), Ognyanov et al. (1974), Dhingra et al. (1980), ficando deste modo, caracterizada a ocorrência de *C. psittaci* entre os bubalinos de Belém do Pará, agente ainda não estudado no Brasil nesta espécie.

Agradecimentos.- Nossos agradecimentos às seguintes instituições, entidades e pessoas, sem o apoio das quais este trabalho não teria sido realizado: Dr. J. Bevan do Central Veterinary Laboratory, Weybridge, Inglaterra, Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA/MA), Laboratório Regional de Apoio Animal (LARA/Pará), Médico Veterinário Airton Nogueira, Dra. Carmem Célia Costa da Conceição, PINDARÉ - Produtos Avícolas, Secretaria de Agricultura do Estado do Pará, Funcionários do LARA/Pará, Setor de Avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, Dr. Edwaldo Loureiro (Fundação SEPS/Belém), funcionários do matadouro Socipe.

REFERÊNCIAS

- Abilgasanov M.M. 1983 Chlamydial abortion in cows, buffaloes and zebu. *Vet. Bull.*53(3):267.
- Bannister G.L., Boulanger P., Gray D.P., Chapman C.H., Avery R.J. & Corner A.H. 1962. Sporadic bovine encephalomyelitis in Canada. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.*26:25-32.
- Bates H.A., Pomeroy B.S., Seal U.S. & Jay A.R. 1965. Ornithosis: experimental immunofluorescence studies. *Avian Dis.*9(1):24-30.
- Baumann G. 1973. Fluorescent histological technique for detecting experimental *Bedsonia* infections in the calf. *Arch. Exp. Veterinaermed.*28(6):847-867.
- Cater G.R. 1979. Rickettsia and Chlamydia, p. 233-242, 435-440. In: Charles C. Thomas (ed.) *Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology*, 3rd ed. Springfield.
- Dhingra P.N., Agarwal L.P., Mahajan V.M., Adlakha S.C. & Baxi K.K. 1981. Chlamydial group antigen: its preparation and use in complement fixation test for measuring Chlamydial group antibodies in animals. *Zentralbl. Veterinaermed.*28:336-340.
- Dhingra P.N., Agarwal L.P., Mahajan V.M. & Adlakha S.C. 1980. Isolation of Chlamydia from pneumonic lungs of buffaloes, cattle and sheep. *Zentralbl. Veterinaermed.*27:680-682.
- Donaldson R., Davis D.E., Watkins J.R. & Sulkin S.E. 1958. The isolation and identification of Ornithosis infection in turkeys by tissue culture and immunocytochemical staining. *Am. J. Vet. Res.*19:950-954.
- Dvorakova D. 1979. Detection of Chlamydia by the immunofluorescence method. *Vet. Med. (Prague)* 24(10):603-614.
- Foggie A. 1979. Chlamydial infections in mammals. *Vet. Rec.* 100:315-317.
- Gupta P.P., Singh B. & Dhingra P.N. 1976. Chlamydial pneumonia in a buffalo calf. *Zentralbl. Veterinaermed.*23:779-781.
- Hafez S.M. & Krauss H. 1979. Detection of antibodies against some

- respiratory pathogens in the sera of domestic animals in Egypt. *Bull. Animal Health and Production in Africa*.27(3):209-214.
- Hanna L., Schachter J. & Jawetz E. 1974. Chlamydiae (psittacosis-lymphogranuloma venereum-trachoma group), p.795-804. In: Lennette H.E., Spaulding E.H., Truant J.P. (ed.) *Manual of Clinical Microbiology*. 2nd ed. American Society Microbiology, Washington.
- Harshfield G.S. 1970. Sporadic bovine encephalomyelitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*156(4):466-477.
- Jones B.R. 1974. Laboratory tests for chlamydial infections: their role in epidemiological studies of trachoma and its control. *Br. J. Ophthalmol.*58:438-454.
- Kolb P. von & Psota A. 1968. Myagawanellen-Isolierungsversuche bei Polyarthrit, Pneumonie, Encephalomyelitis und Interstitieller Herdnephritis (Fleckniere) der Kaelber. *Wien. Tieraerztl. Monatschr.*55:443-455.
- Lewis, V.J., Thacker, W.L. & Cacciapuoti A.F. 1972. Detection of *Chlamydia psittaci* by immunofluorescence. *Appl. Microbiol.*24(1):8-12.
- Menges R.W., Harshfield G.S. & Wenner H.A. 1953. Sporadic bovine encephalomyelitis: studies on pathogenesis and etiology of the disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 122(910/915):294-299.
- Moorthi A.R.S. & Spradbrow P.B. 1978. *Chlamydia psittaci* infection of horses with respiratory disease. *Equine Vet. J.*10(1):38-42.
- Morange A. 1985. De la psittacose, ou infection spéciale déterminée par des perruches. *Tèse, Paris*.
- Nascimento C.N.B., Carvalho L.O.D. & Lourenço Jr. J.B. 1979. Importância do búfalo para a pecuária brasileira. CPATU, Belém.31p.
- Nichols R.L. & McComb D.E. 1962. Immunofluorescent studies with trachoma and related antigens. *J. Immunology* 89:545-554.
- Nichols R.L., McComb D.E., Haddad N. & Murray E.S. 1963. Studies on trachoma: II. Comparison of fluorescent antibodies, Giemsa and egg isolation methods for detection of trachoma virus in human conjunctival scrapings. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*12:223-229.
- Ognyanov D.D., Panova M., Arnaudov, S. & Michev. S. 1973. Neorickettsial encephalomyelitis in buffalo calves. *Veterinarna Sbirka* 70(9):13-15.
- Ognyanov D., Panova M. & Pavlov N. 1974. Sporadic encephalomyelitis in buffalo calves. *Vet. Med. Nauki* 11(1):3-10.
- Pienaar J.G. & Schutte A.P. 1975. The occurrence and pathology of chlamydiosis in domestic and laboratory animals: a review. *Onderstepoort J. Vet. Res.*42(3):77-90.
- Riggs J.L. 1979. Immunofluorescent staining, p.141-151. In: Lennette E.H. & Schmidt N.J. (ed.) *Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections*. American Public Health Association, Washington.
- Ross M.R. & Borman E.K. 1963. Direct and indirect fluorescent antibody technique for the psittacosis-lymphogranuloma groups of agents. *J. Bacteriol.*85:851-858.
- Rovozzo G.G. & Burke C.N. 1973. Preparation of material, equipment and supplies, p.244-247. In: *A manual of basic virological technique*. Proce-Hall, Englewood.
- Rowe L.W.R., Hedger R.S & Smale C. 1978. The isolation of *Chlamydia psittaci*-like agent from a free living african buffalo (*Synceus caffer*). *Vet. Rec.*103:13-14.
- Schachter J. & Dowson C.R. 1979. Psittacosis-lymphogranuloma agents-tric agents, p.1021-59. In: Lennette E.H. & Schmidt, N.J. (ed.) *Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections*. 5th ed. American Public Health Association, Washington.
- Schachter J., Storz, J., Taruzzo M.L. & Bogel K. 1973. Chlamydiae as agent of human and animal diseases. *Bull. WHO.*49:443-449.
- Schmatz H.D., Krauss H. & Viertel 1978. Seroepidemiologische Untersuchungen zum Nachweis von Antikörpern von Rickettsien und Chlamydien bei Hauswiederkaeuern in Aegypten, Somalia und Jordanien. *Acta Trop.* 35:101-111.
- Shewen P. 1980. Chlamydial infections in animals: a review. *Can. Vet. J.*21:2-11.
- Singh N.B. & Malik B.S. 1969. Isolation of agent resembling psittacosis-lymphogranuloma venerum (PLV) group of viruses. *Indian J. Exp. Biology.* 7:62-64.
- Sprears S. & Storz J. 1979. Biotyping of *Chlamydia psittaci* based on inclusion morphology and response to diethylaminoethyl-dextran and cycloheximide. *Infect. Immun.*24(1):224-232.
- Storz J. 1968. Psittacosis-lymphogranuloma agents in bovine pneumonia. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*152(6):814-819.
- Storz J. 1971. Chlamydia and Chlamydia-induced disease. Charles C. Thomas, Springfield. 358p.
- Truszczyński M. & Sadowiski J.M. 1973. Evaluation of the methods for the identification of Chlamydia (*Myiagawanella*) organisms in bovine materials. *Med. Veter.*29(7):319.
- Vera H.D & Dumoff M. 1974. Culture media, p.881-888. In: Lennette H.E., Spaulding H.E., Truant J.P. (ed.) *Manual of Clinical Microbiology*. 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington.
- Wilson M.R. & Thompson R.G. 1968. Chlamydia pneumonia of calves. *Res. Vet. Sci.*9:467-473.
- York C.J. & Baker J.A. 1951. A new number of the psittacosis-lymphogranuloma group of viruses that causes infection in calves. *J. Exp. Med.*93:587-604.

MIOPATIA NUTRICIONAL EM BOVINOS NO RIO GRANDE DO SUL¹

CLAUDIO SEVERO LOMBARDO DE BARROS^{2,4}, SEVERO SALES DE BARROS^{2,4},
MURILO NOGUEIRA DOS SANTOS^{2,4} e LUCIANO LUIZ METZDORF³

ABSTRACT.- Barros C.S.L., Barros S.S, Santos M.N. & Metzdorf L.L. 1988. [**Nutritional miopathy in cattle in Rio Grande do Sul, Brazil.**] Miopatia nutricional em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 8(3/4):51-55. Dep. Patologia, Univ. Fed. Sta Maria, 97119 Santa Maria, RS, Brazil.

The occurrence of nutritional miopathy (white muscle disease) in calves in Rio Grande de Sul, Brazil, is described. In one property in São Gabriel county, 40 out of 140 yearling Hereford calves, which were held in a rye grass pasture, died within 1-3 days after presenting clinical signs consisting of stiffness of the limb muscles and impaired locomotion. In some cases the animals died without showing any clinical signs. Necropsy performed in one animal revealed lesions in the skeletal muscles and, to a lesser degree, in the myocardium consisting of extensive areas of white or cream discoloration. These areas had either a patchy or linear distribution. The most affected muscles included the heavy muscle groups of the thigh and shoulders, as well as the loin muscles, diaphragm and tongue. Microscopic lesions involving the skeletal and cardiac miofibers were mainly degenerative in character consisting of swelling, hialinosis, discoid degeneration and segmental hypercontraction. Fiber calcification was prominent. Myolysis associated with macrophage active phagocytosis of degenerated fibers and neutrophil infiltrates were also observed. After treatment with vitamin E and selenium there was no occurrence of new cases and mildly affected animals recovered.

In another property, a small farm in Santa Maria county, an isolated case of miopathy affecting an 18-day old female BrownSwiss calf was observed. The animal died of a peracute disease with no premonitory signs. Muscular lesions, similar to the ones encountered in the above described outbreak, were seen at necropsy; however, in this case the lesions were more marked in the myocardium. Microscopic lesions were also similar but those of the myorcardium included marked proliferative changes associated with macrophages and other mononuclear cell infiltrates.

INDEX TERMS: Nutritional miopathy, nutritional pathology, cattle, vitamin E and selenium deficiency, white muscle disease.

SINOPSE.- É descrita a ocorrência de miopatia nutricional (doença dos músculos brancos) em bovinos no Rio Grande do Sul. Numa propriedade do município de São Gabriel, de 140 bezerras de aproximadamente um ano de idade que eram mantidos em uma pastagem de azevém, 40 animais morreram. A evolução da doença foi de 1 a 3 dias e os sinais clínicos incluíram rigidez dos músculos dos membros e dificuldade de locomoção. Na necropsia realizada em um dos animais havia lesões nos músculos esqueléticos e, em menor grau, no miocárdio consistindo de áreas de cor branca ou creme. Essas áreas tinham uma distribuição em manchas grandes ou em forma linear. Os músculos mais afetados eram os grandes grupos musculares da coxa e paleta, bem como os músculos lombares, o diafragma e a língua. As lesões microscópicas eram principalmente degenerativas e restritas aos

músculos esqueléticos e ao miocárdio, incluindo tumefação, hialinose, degeneração discóide e hipercontração segmentar das fibras musculares. Havia acentuada calcificação de fibras. Também se observava miólise associada à fagocitose de restos degenerados de fibras e infiltrado neutrofilico. Após tratamento com vitamina E e selênio não houve aparecimento de novos casos e alguns animais afetados levemente recuperaram-se.

Um caso isolado de miopatia foi observado em uma bezerra da raça pardo-suíça no município de Santa Maria numa pequena propriedade de exploração leiteira. O animal morreu subitamente sem apresentar sinais clínicos prévios. Na necropsia foram vistas lesões musculares semelhantes às observadas nos animais do surto acima descrito, porém mais pronunciadas no coração. As lesões microscópicas também eram semelhantes, mas as do miocárdio incluíam marcadas alterações proliferativas acompanhadas por infiltrado de macrófagos e outras células mononucleares.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Miopatia nutricional, patologia da nutrição, bovinos, deficiência de vitamina E e selênio, doença do músculo branco.

INTRODUÇÃO

As miopatias nutricionais degenerativas são doenças

¹ Aceito para a publicação em 22 de outubro de 1987.

² Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97119 Santa Maria, Rio Grande do Sul.

³ Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia, UFSM.

⁴ Bolsista do CNPq.

principalmente de suínos e herbívoros, ocorrendo apenas excepcionalmente em humanos e outros primatas (Muth 1955, Keith & Schneider 1957, Hutchinson et al. 1982, Hulland 1985). Existem relatos de ocorrência ocasional da enfermidade em cães, gatos (Hulland 1985) e eqüinos (Owen et al. 1977).

Parece estar fora de dúvida que a doença seja causada pela deficiência dietética de vitamina E e/ou selênio pois há várias evidências experimentais e de observação de casos espontâneos que confirmam essa hipótese (Swingle et al. 1956).

A doença, nos bovinos, afeta animais desde a vida fetal até 3 meses de idade, com maior incidência entre o 3º e 4º meses, mas ocorre também em animais bem nutridos ao redor de um ano de idade ou mesmo em animais mais velhos (Muth 1955, Keith & Schneider 1957, Hulland 1985). Os sinais clínicos e o curso da doença dependem da localização e extensão das lesões. Há duas formas principais de apresentação: a cardíaca e a musculoesquelética (Hadlow 1962). A forma cardíaca predomina em animais mais novos e alguns desses podem ter morte súbita sem sinais prévios ou morrer após algumas horas do aparecimento de dificuldade respiratória, fraqueza, depressão, descarga nasal de aspecto sangüinolento e morte em aproximadamente 5 horas após o aparecimento dos sintomas (Safford et al. 1956). A forma musculoesquelética apresenta uma evolução mais lenta com sinais clínicos que incluem rigidez dos músculos dos membros, dificuldade de locomoção, postura anormal, dificuldade de deglutição, prostração e morte dentro de 5 dias a uma semana após o início dos sintomas (Hadlow 1962, Blood et al. 1983)

Na necropsia, os músculos cardíaco e esqueléticos aparecem afetados em graus variáveis. As lesões mostram-se como estrias ou áreas extensas opacas de cor esbranquiçada ou branco-creme. Esse aspecto valeu o nome de "doença do músculo branco" para a enfermidade. No miocárdio, a lesão é mais freqüente no ventrículo esquerdo (Muth 1955), no septo interventricular e na base do coração (Hadlow 1962, Blood et al. 1983). As lesões podem ser pequenas ou grandes, de forma irregular, de localização preferencialmente subepicárdica ou subendocárdica. A calcificação das lesões é ocorrência freqüente (Hadlow 1962) e é, em parte, responsável pela cor branca. Na forma cardíaca, freqüentemente aparece edema pulmonar (Hadlow 1962, Blood et al. 1983) e hidrotórax (Keith & Schneider 1957). Na musculatura esquelética as lesões podem envolver músculos isolados ou grupos de músculos, mostrando invariavelmente uma disposição bilateral simétrica (Muth 1955, Blood et al. 1983). Nesses casos onde as lesões dos músculos esqueléticos predominam, essas são mais freqüentes nos grandes grupos musculares da coxa e membros anteriores (Hutchinson et al. 1982). Outros músculos freqüentemente afetados são os da língua, diafragma e do pescoço (Hadlow 1962). As lesões típicas da musculatura esquelética consistem de degeneração hialina, calcificação e fragmentação da fibra muscular. Numerosos macrófagos e, ocasionalmente,

neutrófilos podem estar presentes. Os macrófagos são ativos na fagocitose de restos de fibras degeneradas (Hadlow 1962). No miocárdio as alterações microscópicas são bastante semelhantes. A calcificação das fibras é pronunciada.

A ocorrência da miopatia nutricional não tem sido documentada em nosso país. Com objetivo de relatar a ocorrência dessa doença no estado do Rio Grande Sul, descrevemos aqui casos de miopatia nutricional em bovinos ocorridos em dois estabelecimentos e diagnosticados no Departamento de Patologia Veterinária da UFSM.

MATERIAL E MÉTODOS

Históricos e dados clínicos foram colhidos junto aos proprietários e veterinários das localidades onde ocorreram os casos. As necropsias foram por nos realizadas em um animal de cada estabelecimento. As preparações histológicas para os exames microscópicos foram feitas de vários órgãos (coração, músculo esquelético, fígado, linfonodos, pulmão, língua, rim e intestino) coletados à necropsia. Fragmentos desses órgãos foram fixados em formol neutro a 10%, incluídos em parafina, seccionadas a 5 µ e corados pela Hematoxilina e Eosina. Animais de um estabelecimento foram tratados com vitamina E e selenito de sódio. A vitamina E foi injetada via intramuscular profunda na dose de 250 UI por animal. O selenito de sódio foi adicionado ao sal (cloreto de sódio) do cocho na proporção de 0,01%.

RESULTADOS

Estabelecimento 1

O surto ocorreu no mês de julho de 1968, no município de São Gabriel. De um lote de 140 bezerros da raça Hereford de aproximadamente 1 ano de idade e que eram mantidos em uma pastagem de azevém, 40 morreram. A doença mostrou uma evolução de 1 a 3 dias. Os únicos sintomas observados pelo veterinário local foram enrijecimento dos músculos dos membros e dificuldade ambulatória. Alguns animais tiveram morte súbita sem apresentar sintomas. Todos os animais apresentavam um bom estado de nutrição. Um animal foi necropsiado após apresentar uma evolução do quadro clínico de 2 dias. As lesões macroscópicas estavam restritas ao coração e músculos esqueléticos. Havia extensas áreas de cor esbranquiçada nos músculos da coxa, lombo, no diafragma, língua e grandes massas musculares dos membros anteriores. Estrias esbranquiçadas eram também vistas entre-meadas às fibras do miocárdio. As lesões microscópicas eram essencialmente de caráter degenerativo. As fibras musculares cardíacas e esqueléticas mostravam tumefação, contração e coagulação do citoplasma. Muitas fibras mostravam hipercontração segmentária e degeneração discóide, flocular e granular (Fig.1). Calcificação de fibras era vista com distribuição disseminada e se traduzia pela basofilia do sarcoplasma ou acúmulos focais de grânulos basofílicos no interior de um grupo de fibras (Fig. 2). Em outras áreas havia miólise acompanhada de infiltrado neutrofilico entre as fibras degeneradas (Fig.

3). Havia discreta proliferação de células satélites e discreto infiltrado linfocitário intersticial. Os demais órgãos não mostraram alterações microscópicas.

Após o tratamento com vitamina E e selênio as mortes cessaram e alguns animais afetados menos gravemente recuperaram-se.

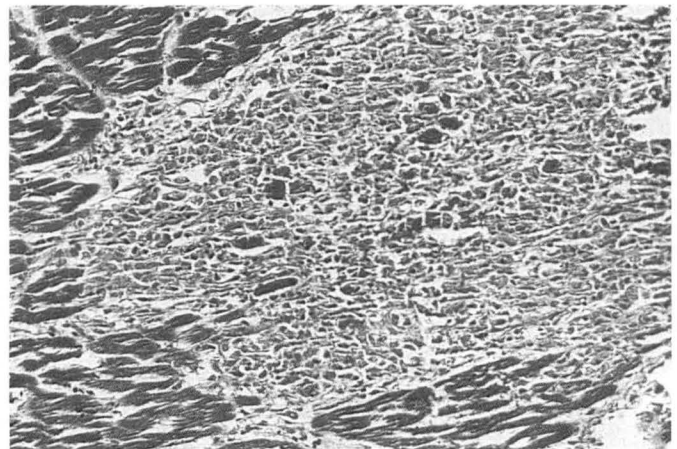
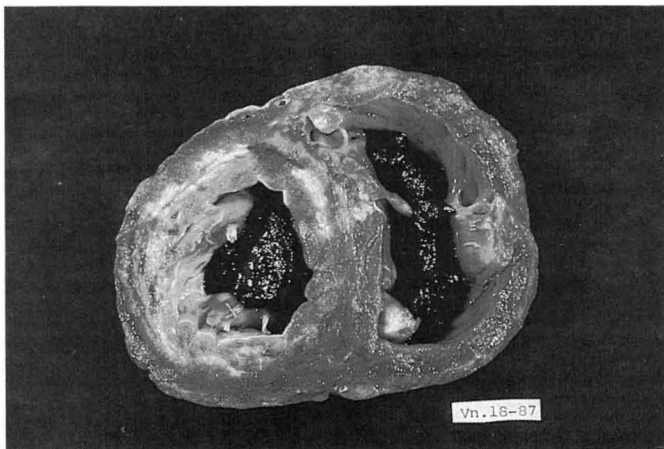
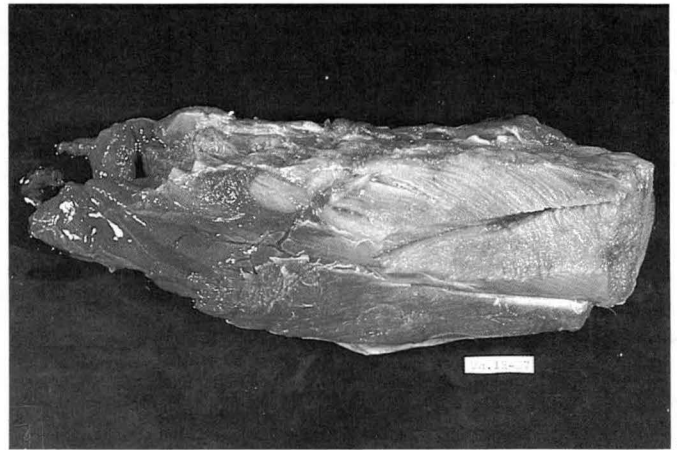
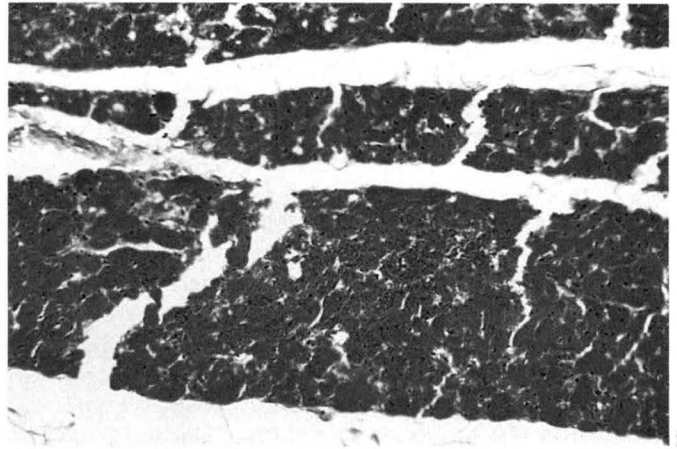
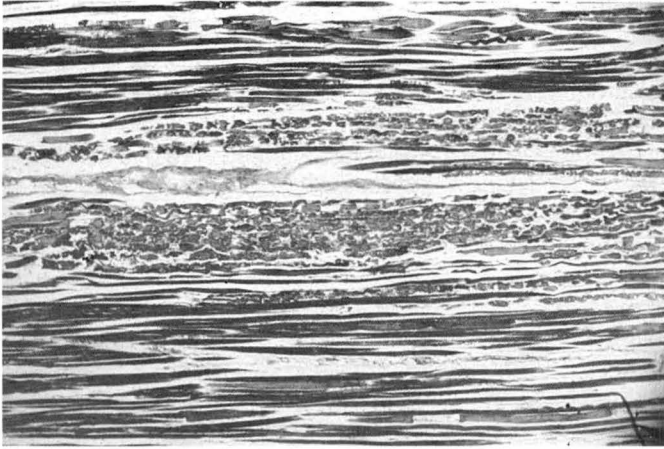


Fig. 1. Degeneração flocular e granular das fibras musculares esqueléticas do bovino do estabelecimento 1. HE, obj. 2,5.

Fig. 3. Tecido muscular esquelético do bovino do estabelecimento 1. Degeneração, fragmentação e dissolução de fibras musculares esqueléticas associadas a infiltrado polimorfonuclear neutrofilico. HE, obj. 16.

Fig. 5. Dilatação dos ventrículos e presença de manchas claras no miocárdio do bovino do estabelecimento 2. Há grandes coágulos cruísticos em ambos os ventrículos.

Fig. 2. Degeneração focal de fibras musculares cardíacas com deposição de sais de cálcio, do bovino do estabelecimento 1. HE, obj. 6,3.

Fig. 4. Grandes áreas esbranquiçadas de degeneração em músculo esquelético do bovino do estabelecimento 2.

Fig. 6. Miocárdio do bovino do estabelecimento 2, em que uma grande área apresenta-se substituída por tecido constituído por núcleos grandes e hiper cromáticos de fibras parcialmente regeneradas. Em meio a esse tecido vêm-se restos de fibras degeneradas e infiltrado mononuclear. HE, obj. 16.

Estabelecimento 2

Um caso isolado de morte súbita em uma bezerra de 18 dias de idade, da raça Pardo Suíça, ocorreu em fevereiro de 1987 numa pequena propriedade de exploração leiteira no município de Santa Maria. O animal morreu sem apresentar quaisquer sinais clínicos premonitórios e estava em bom estado de nutrição. Na necropsia, diversos grupos musculares exibiam áreas de coloração pálida em nítido contraste com áreas de cor avermelhada normais (Fig. 4). Os pulmões mostravam consistência aumentada e crepitação diminuída. Na traquéia e brônquios havia uma espuma branca e abundante; ao corte fluía grande quantidade de líquido róseo. Petéquias eram vistas distribuídas difusamente pelo timo. Coração com hemorragias subepicárdicas. A musculatura cardíaca exibia áreas esbranquiçadas em ambos ventrículos, mas de forma mais pronunciada no esquerdo. Havia dilatação acentuada de ambos ventrículos, com presença de grandes coágulos cruórios preenchendo ambas cavidades ventriculares (Fig. 5). Os linfonodos poplíteos e pré-escapulares estavam congestionados e suculentos ao corte. As lesões microscópicas encontradas nos músculos estriados foram semelhantes às observadas no animal necropsiado no estabelecimento 1. As lesões cardíacas, no entanto, eram mais marcadas; o infiltrado mononuclear e as lesões proliferativas regenerativas de fibroplasia eram mais avançadas no coração do animal do estabelecimento 2. Em algumas áreas, todas as fibras musculares normais haviam sido substituídas por tecido densamente celular constituído por núcleos grandes de fibras musculares parcialmente regeneradas, proliferação fibrosa e infiltrado mononuclear (Fig. 6). Em meio a esse tecido era possível observar-se restos de fibras necróticas, alguns dos quais sendo fagocitados por macrófagos. Era também freqüente o aparecimento de focos de neutrófilos, geralmente em associação a fibras individuais em miólise. Em muitas áreas, o parênquima achava-se colapsado devido a perda de fibras e sobressaia o componente fibroso do estroma (fibrose passiva). Em outras áreas, havia proliferação de tecido conjuntivo com fibroplasia ativa. Calcificação individual de fibras era vista com freqüência. Outras lesões encontradas incluíam marcado edema pulmonar e moderado edema e congestão dos linfonodos. Os demais órgãos não mostravam alterações microscópicas.

DISCUSSÃO

O diagnóstico de miopatia nutricional, nos casos aqui descritos, baseou-se nos sinais clínicos, lesões de necropsia e histopatologia. Esses critérios estão em conformidade com o que é descrito usualmente para esta doença (Muth 1955, Safford et al. 1956, Hadlow 1962, Hulland 1985).

No estabelecimento 1, a doença ocorreu principalmente na forma musculoesquelética, a julgar pelas lesões vistas na necropsia e pelo tempo maior de evolução e tipo dos sintomas, que estão de acordo com o que é descrito

para essa forma (Safford et al. 1956, Hadlow 1962, Blood et al. 1983). O achado desse tipo de sinais clínicos e lesões associadas ao grande número de animais afetados, mais a evidência adicional de que a vitamina E e o silênio tiveram efeito terapêutico preventivo e curativo são muito sugestivos, quanto a natureza da doença.

No caso do animal do estabelecimento 2, a morte foi súbita e sem sinais prévios da enfermidade.

Os sinais clínicos e lesões macro e microscópicas indicam tratar-se da forma descrita como cardíaca (Safford et al. 1956, Hadlow 1962). As lesões de necropsia indicaram uma extensa degeneração do músculo cardíaco, associada a marcado edema pulmonar agudo. Esse último deve ter sido a causa final da morte repentina no animal. A presença de coágulo no ventrículo esquerdo indica insuficiência do miocárdio (Robinson & Maxie 1985) e, de fato, a insuficiência cardíaca é geralmente a responsável pelo edema nesses casos (Hadlow 1962). Como a idade do animal no estabelecimento 2 era de apenas 18 dias e as lesões cardíacas acentuadas, a deficiência nutricional nesse caso deve ter exercido seus efeitos *in utero*. Lesões semelhantes devidas à deficiência de vitamina E e/ou selênio têm sido detectadas em fetos de 7 meses; as mães desses animais são em geral, clinicamente normais (Hulland 1985).

Casos isolados de lesões cardíacas, semelhantes às vistas no animal do estabelecimento 2, ocorrem em bezerros até 6 meses de idade e são por vezes, atribuídas a distúrbios genéticos. Essa alteração, que ocorre no miocárdio de bezerros da raça Hereford, é denominada "curled coated poll Hereford cardiomyopathy" e é morfológicamente indistinguível da miopatia de origem nutricional (Robinson 1987). No entanto, dois pontos indicam que no nosso caso trata-se realmente de miopatia nutricional: 1) não há relatos da doença genética na raça Pardo-Suíça e 2) na doença genética as lesões são restritas ao coração; no nosso caso, as lesões eram mais acentuadas no coração, mas ocorriam também nos músculos esqueléticos.

REFERÊNCIAS

- Blood D.C., Henderson J.A. & Radostits O.M. 1983. Clínica veterinária, 5^o ed. Koogan Guanabara, Rio de Janeiro.
- Hadlow W.J. 1962. Diseases of skeletal muscle, p. 147-243. In: Innes J.R.M. & Saunders L.Z. (ed.). Comparative neuropathology. Academic Press, New York.
- Hulland T.J. 1985. Muscles and tendons, p. 139-199. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C., Palmer N. (ed.) Pathology of domestic animals. Vol. 1. 3rd ed. Academic Press, Orlando.
- Hutchinson L.J., Scholz R.W. & Drake T.R. 1982. Nutritional myodegeneration in a group of Chianina heifers. J. Am. Vet. Med. Assoc. 181(6):581-584.
- Keith T.B. & Schneider A.P. 1957. Muscular dystrophy in calves and lambs. The relation of environmental conditions to incidence. J. Am. Vet. Med. Assoc. 131(11):519-522.
- Muth O.H. 1955. White muscle disease (miopatia) in lambs and calves. Occurrence and nature of the disease under Oregon conditions. J. Am. Vet. Med. Assoc. 126(938):355-361.
- Owen R. ap. R., Moore J.N., Hopkins J.B. & Arthur D. 1977. Dystrophic myodegeneration in adult horse. J. Am. Vet. Med. Assoc. 171(4):343-349.

- Robinson W.F. 1987. Comunicação pessoal (Murdoch University, Western Australia).
- Robinson W.F. & Maxie M.G. 1985. The cardiovascular system, p. 1-81. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (ed.) Pathology of domestic animals. Vol.3. 3rd ed. Academic Press, Orlando.
- Safford J.W., Swingle K.F. & McRoberts D.E. 1956. Muscular dystrophy in lambs as related to the tocopherol levels in the plasma and the milk of ewes and to the various feeds. J. Am. Vet. Med. Assoc. 17(64):503-509.
- Swingle K.F., Safford J.W. & McRoberts, D.E. 1956. Tocopherol levels of the early milks of semirange cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 17(62):28-35.

CARACTERÍSTICAS DA CURVA OVULATÓRIA ESTACIONAL EM ÉGUAS DE ABATE NA REGIÃO SUL DO BRASIL¹

CARLOS ANTONIO MONDINO SILVA², JOAQUIM LOPES DE ALDA³, JOÃO EUGENIO CORREA DE SÁ⁴, PAULO ROBERTO GADENS⁴, RICARDO ARSENTALES ESQUERRE⁵
e MARA IOLANDA BATISTELLA RUBIN⁶

ABSTRACT.- Silva C.A.M., Alda J.L., Sá J.E.C., Gadens P.R., Esquerre R.A. & Rubin M.I.B. 1988. [Characteristics of the equine seasonal ovulatory curve. A study performed in slaughtered mares from southern Brazil.] Características da curva ovulatória estacional em éguas de abate na Região Sul do Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 8(3/4):57-60. Depto Clínica de Grandes Animais, Univ. Fed. Sta Maria, 97119 Santa Maria, RS, Brazil.

The ovaries of 1,374 mares collected at an abattoir were examined for gross evidence of ovulation such as hemorrhagic or luteal bodies. The examinations were carried out from February 1984 to February 1985 in mares from the States of Rio Grande do Sul, Santa Catarina and Parana. The ovulatory rates observed for 1984 were 54.41% in February; 49.61% in March; 32.74% in April; 28.57% in May; 6.85% in June; 3.06% in July; 6.0% in August; 9.65% in September; 30.77% in October; 40.32% in November and 51.69% in December. In January and February of 1985 the ovulation rates observed were respectively 43.01% and 43.48%. Of all ovulations 50.12% occurred in the right ovary and 49.88% in the left ovary. There was 6.97% of multiple ovulations.

INDEX TERMS: Mare, oestrous cycle, physiology.

SINOPSE.- Os ovários de 1374 éguas de abate, procedentes dos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, foram examinados no período de fevereiro de 1984 a fevereiro de 1985, verificando-se a presença de corpos hemorrágicos ou corpos lúteos, expressada em ovulações. Foi observada uma taxa de 54,41% de ovulações no mês de fevereiro de 1984; 49,61% em março; 32,74% em abril; 28,57% em maio; 6,85% em junho; 3,06% em julho; 6,0% em agosto; 9,65% em setembro; 30,77% em outubro; 40,32% em novembro; 51,69% em dezembro; 43,01% em janeiro de 1985 e 43,48% em fevereiro. Do total de ovulações, 50,12% ocorreram no ovário direito e 49,88% no ovário esquerdo. Observou-se, ainda, um total de 6,97% de ovulações múltiplas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Éguas, ciclo estral, fisiologia.

INTRODUÇÃO

A égua apresenta um comportamento reprodutivo poliés-

trico estacional, possuindo um período ótimo de fertilidade no fim da primavera e nos meses de verão (Osborne 1966, Van Niekerk 1967, Hughes & Stabenfeldt 1971, Silva 1978). Tal comportamento deve-se a estímulos externos (fotoperíodo, temperatura) e internos (nutrição) (Hughes et al. 1972, Allen & Newcombe 1977, Silva 1978) que atuam a nível do hipotálamo; assim, durante o inverno, com o fotoperíodo diminuindo, baixa temperatura e pouca disponibilidade natural de alimento, o hipotálamo geralmente não atua com os fatores liberadores de gonadotropinas (GnRH) ou os libera em muito pouca quantidade. Nestas condições, os ovários apresentam-se, então, pequenos e inativos (Allen & Newcombe 1977, Silva 1978). Algumas vezes, entretanto, verifica-se uma ligeira atividade folicular, mas os folículos continuam pequenos e a ovulação não ocorre. O colo do útero está seco e anêmico, assemelhando-se ao colo da égua gestante, embora às vezes se pareça com aquele da égua em diestro (Lieux 1970).

Hughes et al. (1972) observaram três grupos de éguas; um grupo apresentava ciclos regulares durante o ano inteiro, um segundo grupo de éguas com um período cíclico e acíclico bem definidos e um terceiro grupo de éguas poliéstricas estacionais com ciclos irregulares no inverno e começo da primavera.

Após o inverno, quando o fotoperíodo começa a aumentar, assim como a disponibilidade de alimentos, e o clima torna-se menos rigoroso, são enviados estímulos ao

¹ Aceito para publicação em 27 de outubro de 1987.

Trabalho financiado pelo BANCO BOZANO SIMONSEN S.A., dentro do Projeto Dr. Bozano na área de Patologia de Fisiologia da Reprodução Equina.

² Depto Clínica de Grandes Animais, Centro de Ciências Rurais, Univ. Fed. Sta Maria (UFMSM), 97119 Santa Maria, Rio Grande do Sul.

³ Veterinário-Residente do Haras Santa Maria de Araras, São José dos Pinhais, Paraná.

⁴ Veterinários estagiários do Haras Santa Maria de Araras.

⁵ Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Fisiopatologia da Reprodução, UFMSM.

⁶ Depto Clínica de Grandes Animais, C.C. Rurais, UFMSM, Bolsista do CNPq.

hipotálamo, que então começa a produzir e liberar o GnRH que atua sobre o lóbulo anterior da hipófise. Esta, por sua vez, começa a liberar as gonadotropinas (FSH e LH), promovendo o desenvolvimento de folículos nos ovários e manifestações de cio. Estes primeiros cios, no entanto, muitas vezes são prolongados, com duração de mais de 10 a 20 dias, podendo, em raras ocasiões, chegar a 100 dias, devido a uma função parcial da hipófise que embora apta à produção do FSH, ainda não se encontra capacitada para produzir e secretar o LH necessário para a maturação folicular e a ovulação (Silva 1978); no fim da primavera os ciclos tornam-se regulares.

Osborne (1966), estudando a curva de ovulação de éguas na Austrália, observou uma diminuição no número de ovulações a partir do mês de abril, que começou a aumentar a partir do mês de outubro, alcançando os valores máximos nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro.

Esse fato poderia levar alguém a pensar que uma simples mudança na estação de monta do Cavalito Puro Sangue de Corrida para os meses mais favoráveis seria benéfica. Resta saber se exclusivamente uma melhor utilização dos ciclos estrais seria motivo suficiente para isso.

O objetivo deste trabalho foi o de verificar até que ponto, nas nossas condições climáticas, a influência estacional agiria sobre a função ovariana no decorrer do ano.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ovários de 1374 éguas, procedentes dos Estados do Rio Grande do Sul (70%), Santa Catarina (17%) e Paraná (13%) e abatidas no Frigorífico Yukijirushi do Paraná S.A., em Curitiba (PR), no período de fevereiro de 1984 a fevereiro de 1985, foram submetidos a exame macroscópico imediatamente após o abate. Cada ovário foi examinado a fim de verificar-se a existência de corpos hemorrágicos ou corpos lúteos que revelassem ovulações recentes e o total foi expresso em percentagens mensais. Computou-se, também, o número de ovulações simples e múltiplas, bem como o ovário em que ocorreu a ovulação.

RESULTADOS

Observa-se na Fig. 1 uma predominância das éguas procedentes do Estado do Rio Grande do Sul (70%), seguidas pelas éguas procedentes de Santa Catarina (17%) e Paraná (13%).

Na Fig. 2 observa-se uma curva ovulatória bem definida durante o ano, com percentagens de ovulação mínimas nos meses de inverno e começo da primavera e máximas no fim de primavera e durante o verão.

No Quadro 1 observa-se uma grande queda no número de ovulações a partir do mês de abril (32,74%), alcançando o valor mínimo no mês de julho (3,06%); posteriormente, a partir do mês de outubro, observa-se uma recuperação na taxa de ovulações (30,77%), alcançando valores máximos nos meses de dezembro (51,69%), janeiro (43,01%), fevereiro (48,94%) e março (49,61%).

No Quadro 2 observa-se que, de um total de 402 ovulações, 374 (93,03%) foram simples e 28 (6,97%), múltiplas.

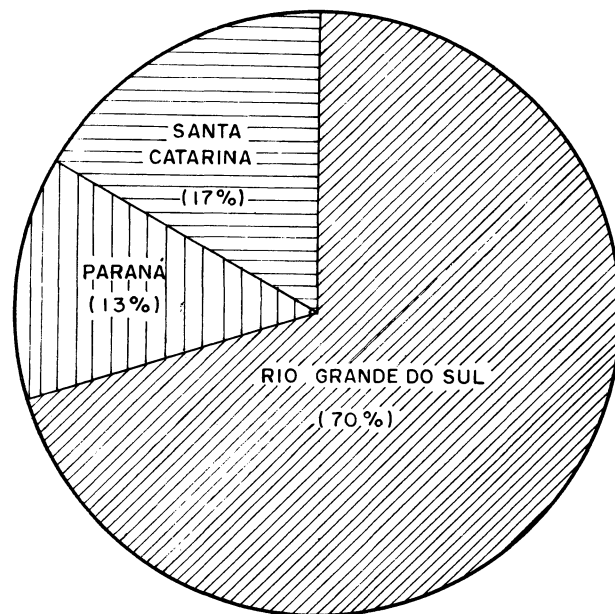


Fig. 1. Procedência das 1374 éguas examinadas durante os meses de fevereiro de 1984 a fevereiro de 1985.

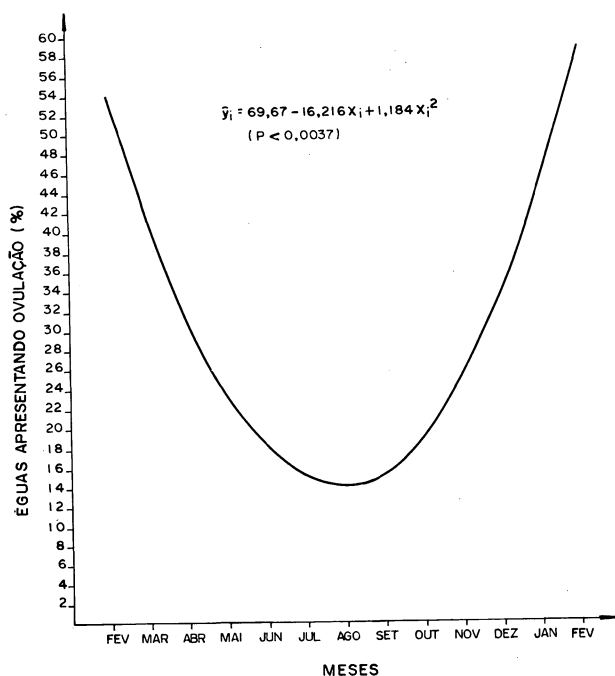


Fig. 2. Variação mensal dos índices de ovulação observados em 1374 éguas de abate no período de fevereiro de 1984 a fevereiro de 1985.

No Quadro 3 observa-se que quase não há diferença entre as ovulações ocorridas no ovário direito (50,12%) e no ovário esquerdo (49,88%).

DISCUSSÃO

Observou-se uma grande influência da época do ano sobre a taxa de ovulação das éguas examinadas, sendo os

Quadro 1. Valores correspondentes ao total de éguas examinadas, ovuladas e percentagem de ovulação desde fevereiro de 1984 até fevereiro de 1985

Mês	Ano	Éguas		% de ovulação
		Examinadas n	Ovuladas n	
Fevereiro	1984	68	37	54,41
Março	1984	129	64	49,61
Abril	1984	113	37	32,74
Mai	1984	147	42	28,57
Junho	1984	146	10	6,85
Julho	1984	98	3	3,06
Agosto	1984	100	6	6,00
Setembro	1984	114	11	9,65
Outubro	1984	117	36	30,77
Novembro	1984	62	25	40,32
Dezembro	1984	118	61	51,69
Janeiro	1985	93	40	43,01
Fevereiro	1985	69	30	43,48
Total		1374	402	

Quadro 2. Valores e percentagens de ovulações simples e múltiplas observadas nas éguas examinadas entre fevereiro de 1984 e fevereiro de 1985

Ovulações	n	%
Simple	374	93,03
Múltiplas	28 ^a	6,97
Total	402	100,00

^a Cinco correspondem a ovulações no ovário esquerdo e 23 a ovulações em ambos os ovários.

Quadro 3. Valores totais e percentagens das ovulações ocorridas em cada ovário ds éguas examinadas entre fevereiro de 1984 e fevereiro de 1985

Ovário	Ovulações		Total	
	Simple	Múltiplas	n	%
Esquerdo	184 ^a	28 ^a	212	49,88
Direito	190 ^a	23 ^a	213	50,12
Total	374	28 ^b	425	100,0

^a Não houve diferença estatisticamente significativa.

^b Do total de 28 ovulações múltiplas, 23 casos correspondem a uma ovulação em cada ovário e cinco só do ovário esquerdo.

meses de inverno os que apresentaram menor incidência de ovulações.

Embora se tenha alcançado baixa incidência de ovulação nos meses de junho (6,85%), julho (3,06%), agosto (6,0%) e setembro (9,65%), sempre se observou que algumas éguas ovularam, o que é uma indicação segura de que o anestro estacional não é absoluto. Sempre serão encontradas éguas que se comportam como poliétricas anuais. As observações aqui verificadas concordam com as de Osborne (1966) e Hughes et al. (1972).

Observou-se uma diminuição na taxa de ovulação a partir do mês de março, os valores menores entre os meses de junho a setembro, a elevação do número de ovulações a partir do mês de outubro, para chegar aos maiores valores nos meses de dezembro a fevereiro.

Se for considerada a estação de monta oficial do cavalo Puro Sangue de Corrida (PSC) - de 15 de agosto a 15 de janeiro - (Fig. 2), observa-se que os primeiros meses mostram taxas de ovulação muito insatisfatórias, fi-

cando os melhores índices já no fim e até fora da estação de monta. Esta simples constatação poderia servir de razão para que se pensasse numa possível mudança de estação de monta para uma época mais favorável. Ocorre que, através de medidas adequadas de manejo, como por exemplo a alteração artificial do fotoperíodo, o problema do anestro estacional e dosaios prolongados anovulatórios do início da estação de monta podem ser facilmente contornados (Silva 1980). Deve-se considerar, ainda, e dar ênfase especial ao fato de que um dos poucos problemas que se tem com a estação de monta iniciando em agosto é o do ciclo estral. E este, como, já foi dito, é um problema facilmente contornável.

Quando se trabalha seriamente na criação do cavalo PSC, não se deve jamais esquecer que tudo é importante (alimentação, garanhões, éguas vazias, éguas gestantes, éguas com seus produtos, potrancas retornando das pistas, os produtos e, especialmente, a saúde dos animais e seu manejo). Uma eventual mudança da estação de monta traria consigo a impossibilidade das éguas poderem utilizar as pastagens de inverno de alta qualidade que se podem cultivar nas regiões mais ao sul do país, onde estão hoje sediadas a maioria das éguas PSC do Brasil, isto é, em conjunto, do Rio Grande do Sul ao Paraná. O desenvolvimento dos produtos nos seus três a quatro primeiros meses de vida - fase de maior desenvolvimento relativo entre o nascimento e a idade adulta - depende quase exclusivamente da produção láctea da mãe, que é fortemente influenciada pela qualidade da pastagem. Como essas pastagens têm sua produção incrementada entre agosto e novembro, torna-se interessante que os produtos venham a nascer, se possível, entre julho e agosto de cada ano.

No presente estudo foram encontradas 50,12% das ovulações no ovário direito e 49,88% no esquerdo, ou seja, o número de ovulações simples e múltiplas não dependeu do ovário esquerdo ou direito ($P \geq 0,05$).

Concluindo, pode-se dizer que, em condições naturais, o fotoperíodo exerce grande influência sobre o ciclo estral das éguas, ficando a maior parte delas num estado de anestro durante o inverno, embora uma pequena percentagem mostre ciclos ovulatórios. Esses dados de observação por si só justificam a utilização de um programa de iluminação artificial fixo de 15-16 horas de luz por dia (Silva 1980).

Agradecimentos.- Ao Frigorífico Yukijirushi do Paraná S.A., pela oportunidade da realização do presente trabalho.

REFERÊNCIAS

- Allen W.E. & Newcombe J.R. 1977. Anoestrus conditions in the mare, their diagnosis and treatment. *Vet. Rec.* 100:338-340.
- Hughes J.P., Stabenfeldt G.H. & Evans J.W. 1972. Estrous cycle and ovulation in the mare. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 161(11):1367-1374.
- Hughes J.P. & Stabenfeldt G.H. 1971. The effect of season on the equine estrous cycle. *J. Anim. Sci.* 33:253.
- Lieux P. 1970. Relationship between the appearance of the cervix and the heat cycle in the mare. *Vet. Med. Small Anim. Clin.* 65:879-886.
- Osborne V.E. 1966. An analysis of the pattern of ovulation as it occurs in

- the annual reproductive cycle of the mare in Australia. *Aust. Vet. J.* 42:149-154.
- Silva C.A.M. 1978. Aspectos da fisiologia e patologia da reprodução na égua Puro Sangue de Corrida. Centro C. Rurais, UFSM, Santa Maria, RS. 32p.
- Silva C.A.M. 1980. Controle artificial do fotoperíodo para estimular o ciclo estral da égua. *Turf e Fomento* 20:417.
- Van Niekerk C.H. 1967. Pattern of the oestrous cycle of mares. 1. The breeding season. *J. S. Afr. Vet. Med. Assoc.* 38(3):295-298.

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL PELAS FOLHAS E EXTRATOS DE *Thiloa glaucocarpa* (Combretaceae) EM COELHOS¹

CARLOS HUBINGER TOKARNIA², PAULO VARGAS PEIXOTO³ e JÜRGEN DÖBEREINER⁴

ABSTRACT.- Tokarnia C.H., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 1988. [Experimental poisoning of rabbits by the leaves and extracts of *Thiloa glaucocarpa* (Combretaceae).] Intoxicação experimental pelas folhas e extratos de *Thiloa glaucocarpa* (Combretaceae) em coelhos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 8(3/4):61-74. Depto. Nutrição Animal, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro and Embrapa-UAPNPSA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851, Brasil.

The dried leaves and extracts (tannins) of *Thiloa glaucocarpa* were given by stomach tube to 28 and 12 rabbits, respectively. In these experiments it was determined that the rabbit is susceptible to poisoning by the leaves of *T. glaucocarpa*. With a single administration 9 of 22 rabbits died; one rabbit was sacrificed at the end of the experiment. In experiments with repeated administrations, four of six rabbits died, two others being sacrificed at the end of the experiment. In all experiments in which the rabbits died, the course of the poisoning was acute (maximum 33 hrs). The clinical-pathological picture of experiments with single or repeated administrations, showed changes predominantly in the gastrointestinal tract and the liver. Mild lesions were also seen in the kidney.

It was also verified that the rabbit is susceptible to poisoning by the extracts (tannins) obtained from the leaves of *T. glaucocarpa*. With a single administration three of five rabbits died, and with repeated administrations, four of seven rabbits died; three rabbits were sacrificed when the experiment was terminated. In all experiments with a single administration, ending with the death of the animals, the course of the poisoning was acute (maximum 24 hrs). In experiments with repeated administrations, ending with the death of the animals, the course was acute (12h) in one experiment, and longer (3 and a half to 6 days) in three others. In these experiments with single or repeated administrations, liver lesions predominated, with very slight renal lesions: repeated administrations also produced lesions of the digestive tract.

It is concluded from these experiments, that tannins have a noxious action similar to that of the leaves when given to rabbits, and that tannins constitute the toxic principle of *T. glaucocarpa*, in regard to the rabbit. It is also concluded, that it can not be confirmed that these tannins are responsible for the clinical-pathological picture of poisoning by *T. glaucocarpa* in bovines, where lesions of the kidneys and the digestive tract predominate, with some hepatic lesions also being found. Experiments with other plants suggest that this hypothesis is correct, for instance, in the poisoning by *Vernonia mollissima*, depending on the animal species, the course of the poisoning and the dose given influence whether liver or renal lesions predominate.

INDEX TERMS: Poisonous plants, experimental plant poisoning, *Thiloa glaucocarpa*, Combretaceae, rabbits, pathology, tannins.

SINOPSE.- As folhas dessecadas e extratos (taninos) de *Thiloa glaucocarpa* Eichl. foram administrados por sonda gástrica a 28 e 12 coelhos, respectivamente. Nesses experimentos foi verificado que o coelho é sensível à intoxicação pelas folhas de *T. glaucocarpa*. Com administrações únicas morreram 9 dos 22 coelhos; adicionalmente, um coelho foi sacrificado após o experimento; com administrações repetidas morreram 4 dos 6 coelhos; 2 outros foram sacrificados. Em todos os experimentos que terminaram

com êxito letal, a evolução da intoxicação foi aguda (no máximo 33 horas). Tanto com as administrações únicas como as repetidas, predominavam, no quadro clínico-patológico, alterações relativas ao tubo digestivo e ao fígado e havia, em grau leve, lesões renais.

Foi verificado que o coelho é também sensível à intoxicação pelos extratos (taninos) obtidos das folhas de *T. glaucocarpa*. Com administrações únicas morreram 3 dos 5, e com administrações repetidas, 4 dos 7 coelhos; 3 outros foram sacrificados após o experimento. Em todos os experimentos com administrações únicas e êxito letal, a evolução da intoxicação foi aguda (no máximo 24 h); nos de administrações repetidas com êxito letal, em um caso foi aguda (de 12 h) e nos outros 3 casos variou de 3 e meio a 6 dias. Tanto nas administrações únicas como nas repetidas, predominavam alterações hepáticas e havia, em grau muito leve, lesões renais; com administrações repetidas havia, ainda, alterações do tubo digestivo.

¹ Aceito para publicação em 10 de novembro de 1987.

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

³ Pesquisador bolsista, Unidade de Apoio ao Programa Nacional de Pesquisa em Saúde Animal (UAPNPSA), Embrapa.

⁴ Embrapa-UAPNPSA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851.

Concluiu-se, por esses experimentos, que os taninos possuem ação nociva semelhante à das folhas quando administrados a coelhos, e que, portanto, taninos constituem o princípio tóxico de *T. glaucocarpa* em relação ao coelho. Concluiu-se, também, que não se pode afirmar que esses taninos sejam responsáveis pelo quadro clínico-patológico da intoxicação por *Thiloo glaucocarpa* nos bovinos, em que predominam alterações renais e do tubo digestivo, mas em que há também lesões hepáticas. No entanto, experimentos com outras plantas sugerem que essa hipótese seja verdadeira, visto que, na intoxicação por *Vernonia mollissima* Don, por exemplo dependendo da espécie animal, da evolução da intoxicação e da dose empregada, podem-se obter quadros predominantemente hepatotóxicos ou predominante nefrotóxicos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, intoxicação experimental por planta, *Thiloo glaucocarpa*, Combretaceae, coelho, patologia, taninos.

INTRODUÇÃO

No Brasil, a planta nefrotóxica mais importante, sob o ponto de vista agropecuário, é *Thiloo glaucocarpa*, árvore arbustiva da família Combretaceae, conhecida vulgarmente pelos nomes "sipaúba" e "vaqueta". É uma das plantas tóxicas mais importantes da Região Nordeste do Brasil, ocorrendo desde o Piauí, Ceará, até ao oeste da Bahia e nordeste de Minas Gerais, sempre nas caatingas. (Tokarnia et al. 1981, e dados não publicados).

Essa planta é a causa de doença em bovinos, conhecida pelos nomes populares de "papa inchada", "venta seca", "mal da rama" ou "mal da rama murcha". A doença é observada anualmente e ocorre sob a forma de surtos no começo da estação chuvosa (inverno).

Sob condições naturais, a intoxicação por *T. glaucocarpa* é observada somente em bovinos e não ocorre, de acordo com nossas observações, nem nos caprinos, existentes em grande quantidade naquelas mesmas regiões, nem em outras espécies animais.

Experimentalmente, tem sido reproduzido o quadro da intoxicação por *T. glaucocarpa* em bovinos (Tokarnia et al. 1981).

O presente estudo é constituído de duas partes. Na primeira, as folhas dessecadas de *T. glaucocarpa* foram administradas por via oral (por sonda intragástrica) a coelhos, para verificar se eles são sensíveis à intoxicação por essa planta, e qual o quadro clínico-patológico produzido por ela nessa espécie animal.

Na segunda parte, extratos (taninos) preparados a partir das folhas de *T. glaucocarpa* foram administrados por via oral (por sonda intragástrica) a coelhos, com o fim de verificar se com tais extratos seria possível reproduzir o quadro clínico-patológico provocado pelas folhas, e pela comparação dos quadros clínico-patológicos, verificar, se esses taninos poderiam ser ou não o princípio tóxico de *T. glaucocarpa*, responsável pela sua toxidez tanto para coelhos como para bovinos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Em relação as folhas

As folhas ou a brotação de *Thiloo glaucocarpa*, colhidas no Piauí (municípios de Castelo e de Pimenteiras), Ceará (mun.

Aracati e Fortaleza), Bahia (mun. Barra e Mopara) e Minas Gerais (mun. Itinga), nos anos de 1979 a 1986, foram dessecadas inicialmente à sombra, em temperatura ambiente, e, mais tarde, em estufa a 40-45° durante 2 a 3 dias. Em seguida, foram pulverizadas em moinho Wiley com malha 60 e finalmente conservadas em vidros fechados com tampa plástica e guardados em temperatura ambiente.

Em relação aos extratos

Usamos em nossos experimentos a fração 3, obtida por Itakura et al. (1987) durante os trabalhos de isolamento do(s) princípio(s) tóxico(s) de *Thiloo glaucocarpa*. Essa fração foi extraída das folhas dessecadas, com metanol; o extrato foi lavado com clorofórmio, e depois dialisado contra água corrente. Uma fração não dialisável foi cromatografada sobre coluna de Sephadex LH-20. Foram obtidas 5 frações, uma das quais foi Fração 3. Da Fração 3 foram obtidos compostos 1 e 2, que foram identificados como os taninos vescalagina e castalagina, respectivamente.

Além desses compostos, outros taninos foram isolados, de outras frações de *T. glaucocarpa*, e foram identificados como stachyurina (Composto 3) e casuarinina (Composto 4). Estes últimos não foram testados por nós.

Tanto as folhas e a brotação, como os extratos (taninos), foram administrados aos coelhos em doses únicas ou em doses repetidas (duas ou mais administrações), previamente determinadas, por meio de um funil de separação adaptado a uma sonda intragástrica, conforme técnica descrita anteriormente (Döbereiner et al. 1976). Os coelhos eram mantidos em gaiolas individuais e recebiam, como alimento, ração comercial, capim e água.

Após a administração da planta, os animais eram observados durante a maior parte do dia. Nos casos de morte, fazia-se a necropsia, complementada por coleta de material para exames histopatológicos. Esse material era fixado em formol a 10%, incluído em parafina e corado pela hematoxilina-eosina (HE).

RESULTADOS

Os principais dados sobre os experimentos com as folhas e a brotação bem como com os extratos (taninos) de *Thiloo glaucocarpa* constam dos Quadros 1 a 3, e 4 a 6, respectivamente.

Experimentos com as folhas de *Thiloo glaucocarpa*

Experimentos com administrações únicas

Verificou-se que, dos 22 coelhos que receberam doses únicas, 17 adoeceram, dos quais 9 morreram; adicionalmente, um dos animais que adoeceram e se recuperaram, foi posteriormente sacrificado (Coelho 990).

A quantidade de folhas ou brotação necessária para causar a morte dos coelhos variou bastante. A menor dose que causou a morte foi de 2g/kg - brotação procedente dos municípios de Castelo, Piauí (Coelho 599) e de Aracati, Ceará (Coelho 605) - e a maior dose que não causou a morte foi de 6 g/kg - brotação procedente dos municípios de Itinga, Minas Gerais (Coelho 794), de Mopara, Bahia (Coelho 810) e de Fortaleza, Ceará (Coelho 990) e folhas maduras procedentes do município de Barra, Bahia (Coelho 797).

Nos experimentos com as folhas ou brotação em doses únicas com êxito letal, os coelhos adoeceram dentro de até 30 horas (difícil de se determinar exatamente) e a

Quadro 1. Experimentos em coelhos com as folhas ou brotação dessecada de *Thilao glaucocarpa*. Doses e manifestações clínicas

Coelho	Planta administrada					Sintomas				
	Nº (reg. SAP) ^a	Peso	Data da administração	Quantidade (g)	Dose (g/kg)	Infício dos sintomas após (1ª) administração	Evolução	Morte após (1ª) administração	Recuperado após administração da planta (Após ...)	Manifestações
Experimentos com administrações únicas										
Brotação col. dez. 1979 no município Castelo, Piauí										
597 (22699)	4150	16.01.80	28	7	6h30 min	± 3h40 min	± 10h10 min	-	-	Não foram vistos. Foi encontrado morto em decúbito esterno-abdominal; com abdômen volumoso, sinais externos de diarreia.
598 (22700)	4000	16.01.80	28	7	10h10 min	25 min	10h35 min	-	-	Deitado em decúbito esterno-abdominal; com abdômen volumoso; sem sinais externos de diarreia. Encostou fofinho no chão e morreu nessa posição
599 (22701)	3850	17.01.80	7,7	2	± 24h	± 21h	± 45h	-	-	Anorexia. Foi encontrado morto em decúbito lateral
603	3600	29.01.80	3,6	1	-	-	-	-	-	Sem sintomas
604	3900	29.01.80	1,95	0,5	-	-	-	-	-	Sem sintomas
Folhas ± maduras col. nov. 1979 no mun. Pimenteiras, Piauí										
600 (22702)	3550	17.01.80	7,1	2	-	-	-	-	-	Sem sintomas
601 (22702)	4600	29.01.80	18,4	4	29h22 min	2 min	29h24 min	-	-	Estava calmo. De repente teve ataque convulsivo, caiu de lado, deu 2 gritos baixos, e morreu
602 (22703)	4400	29.01.80	26,4	6	± 24h	± 19h30 min	± 43h30 min	-	-	Esteve parado o dia todo com anorexia. Não defecou. Foi encontrado morto.
Brotação col. 5-11.2.80 no mun. Aracati, Ceará										
605 (22748)	3900	02.07.80	7,8	2	13h30 min	± 13h30 min	± 27h	-	-	Abdômen volumoso. Ficou em decúbito lateral e foi encontrado morto nessa posição
608 (22734)	3650	28.05.80	14,6	4	8h30 min	± 19h	± 27h30 min	-	-	Foi observado que estava com abdômen volumoso. Foi encontrado morto, em decúbito lateral
613	3500	14.05.80	7	2	-	-	-	-	-	Sem sintomas
620	2550	31.07.80	2,55	1	-	-	-	-	-	Sem sintomas
Folha madura, col. 9.8.84, na Faz. Vale do Sol, no mun. Barra, Bahia										
797	3050	19.09.84	27,75	6	± 72h	± 4 dias	-	7 dias	-	Anorexia variável durante aprox. 4 dias. Fezes sob forma de bolotas em pequena quantidades e escuras. Não urinou durante 2 desses dias. Desta maneira adoeceu levemente, mas se recuperou
Brotação, col. 17.10.84, em Água Fria dos Sobrados, no mun. Itinga, Minas Gerais										
794	3320	29.11.84	19,92	6	± 24h	8 dias	-	9 dias	-	Anorexia variável durante aprox. 8 dias. Fezes sob forma de bolotas em quantidade menor, tamanho normal, escuras; não urinou alguns dias. Desta maneira adoeceu leve a moderadamente, mas se recuperou
Brotação, col. 13.12.84, no mun. Mopara, Bahia										
762 (23445)	4300	01.02.85	17,2	4	± 48h	2 dias	-	4 dias	-	Anorexia variável durante 2 dias. Fezes sob forma de bolotas em menor quantidade e menor tamanho, de cor normal. Não urinou em um desses dias. Desta maneira adoeceu levemente, mas se recuperou
796 (23445)	2780	18.01.85	16,7	6	10h45 min	33h	43h45 min	-	-	Anorexia. Foi encontrado morto
810	3050	14.03.85	27,75	6	± 48h	3 dias	-	5 dias	-	Anorexia variável durante 3 dias. Fezes sob forma de bolotas em menor quantidade e tamanho, escuras. Sempre urinou. Desta maneira adoeceu levemente, mas se recuperou
Brotação, col. em abril 1987, no mun. Fortaleza, Ceará										
982 (24298)	2750	14.05.87	-	4	± 24h	± 48h	-	3 dias	-	Só anorexia moderada durante 2 dias
989	2780	12.05.87	-	2	± 24h	± 48h	-	3 dias	-	Só anorexia leve durante 2 dias
990 (24298)	3050	20.05.87	-	6	± 24h	4 dias	Sacr. em 13.8.87	5 dias	-	Anorexia acentuada durante 3 dias, moderada durante 1 dia; durante esse período fezes em quantidade moderada e sob forma de bolotas pequenas/médias
994	2550	27.05.87	-	3	± 24h	7 dias	-	8 dias	-	Anorexia acentuada durante 3 dias, mais 4 dias com anorexia moderada; durante esse período fezes em quantidade pequena/moderada sob forma de bolotas de tamanho pequeno/médio
1014 (24285)	2920	29.07.87	-	6	± 24h	26h	50h	-	-	Anorexia; irrequieto 15 minutos antes de morrer
Experimentos com 2 administrações										
Brotação col. abril 1987, no mun. de Fortaleza, Ceará										
956 (24279)	3340	11.08.87	-	3	± 24h	24h	48h	-	-	Teve anorexia acentuada, não defecou. Parado. Amanheceu morto no 3º dia do experimento
987 (24223)	3100	21.05.87	-	3	± 24h	24h	48h	-	-	Anorexia, poucas fezes. Morreu no infício do 3º dia do experimento sem outras manifestações
993 (24232)	2600	27.05.87	-	3	± 24h	24h	48h	-	-	Arroxia, poucas fezes. Amanheceu morto no 3º dia do experimento
995 (24233)	2370	27.05.87	-	6	± 24h	48h	72h	-	-	Anorexia, poucas fezes sob forma de bolotas pequenas e escuras. No 4º dia do experimento amanheceu morto
Experimentos com mais de 2 administrações										
Brotação col. em abril 1987, no mun. Fortaleza, Ceará										
998 (24242)	3050	14.05.87 até 05.06.87	-	2 g/kg/diário x 23	-	-	Sacr. no 24º dia, isto é no dia seguinte da última administração da planta	-	-	Praticamente não adoeceu
999 (24243/44)	2550	27.05.87 até 10.06.87	-	3 g/kg/diário x 15	-	-	Sacr. no 16º dia, isto é no dia seguinte da última administração da planta	-	-	Praticamente não adoeceu

^aMaterial histopatológico registrado no Setor de Anatomia Patológica da Unidade de Pesquisa em Saúde Aniaml (UAPNPSA) da Embrapa.

morte se deu dentro de até 50 horas após a administração da planta.

Nos experimentos com êxito letal, em que os coelhos morreram dentro do prazo de até 30 horas após a administração da planta, os sintomas observados foram principalmente abdômen volumoso (7 g/kg da brotação - Coelho 597; 7 g/kg da brotação - Coelho 598; 2g/kg da brotação - Coelho 605; 4 g/kg da brotação - Coelho 608);

num deles (Coelho 597) observou-se adicionalmente diarreia; em um outro foi observado somente ataque convulsivo (4 g/kg das folhas mais ou menos maduras - Coelho 601). Nos coelhos que morreram entre 30 e 50 horas após a administração da planta (2 g/kg da brotação - Coelho 599; 6 g/kg das folhas mais ou menos maduras - Coelho 602; 6 g/kg da brotação - Coelho 796; 6 g/kg da brotação - Coelho 1014) observou-se somente anorexia.

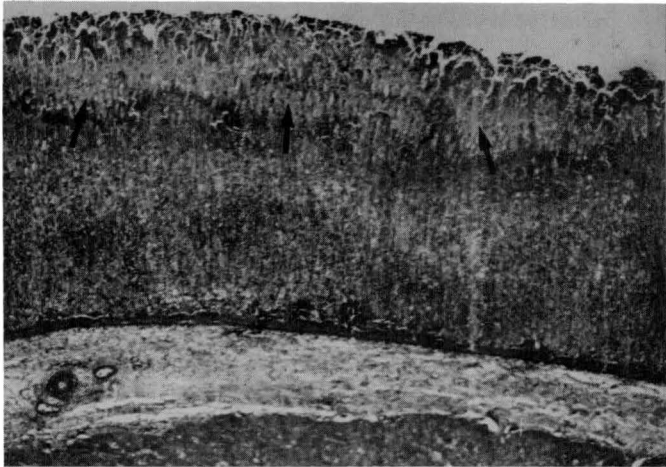
Quadro 2. Achados de necropsia na intoxicação experimental com as folhas ou brotação de *Thilao glaucocarpa* em coelhos

Coelho Nº (reg. SAP)	Dose da planta administrada g/kg	Fígado		Rins		Aparelho digestivo				
		Coloração	Lobulação nftida	Pálidos ou claros	Escuros	Estômago	Intestino delgado	Ceco	Cólon	
<i>Experimentos de administrações únicas</i>										
597 (22699)	7	Externamente e ao corte mais claro	+ ^a	-	-	Externamente com manchas vermelhas. Epitélio deixa-se raspar. Própria avermelhada	-	Muito dilatado, com muito gás e conteúdo líquido	Conteúdo líquido, inclusive no reto	
598 (22700)	7	Externamente e ao corte mais claro	-	-	-	Externamente com áreas de infiltração hemorrágica, outras de congestão. Mucosa com erosões e áreas avermelhadas	-	Muito dilatado, com conteúdo líquido	Conteúdo líquido, no reto cremoso	
599 (22701)	2	-	+	+	-	-	-	-	Bolotas endurecidas no cólon e reto	
601 (22702)	4	Cor cinza- amarelada	+	+	-	Áreas avermelhadas na mucosa	-	-	-	
602 (22703)	6	Externamente e ao corte mais claro	-	-	-	Externamente área avermelhada. Na mucosa petéquias e áreas avermelhadas	Com conteúdo líquido levemente marrom	Conteúdo semilíquido	Reto com bolotas deformadas ressequidas	
605 (22748)	2	Coloração mais clara	+	-	-	-	-	-	-	
608 (22734)	4	Cor clara	+	-	-	Parede edemaciada, mucosa parcialmente avermelhada com membranas difteróides sobre grandes áreas	-	Conteúdo líquido	Conteúdo líquido	
796 (23445)	6	-	+	+	-	Na região pilórica mucosa coberta por sangue	Os 30 cm iniciais com conteúdo vermelho (sangue)	Conteúdo normal	Conteúdo normal	
990 (24298)	6	-	-	-	-	-	-	-	-	
1014 (24285)	6	Mais claro	+	-	Parte interna da cortical mais escura	Um quarto da superfície da mucosa com material friável aderido	-	-	-	
<i>Experimentos com 2 administrações</i>										
956 (24279)	3 x 2	Mais escuro (vermelho- marrom escuro)	+	-	-	-	-	-	-	
987 (24223)	3 x 2	-	+	-	-	-	-	-	Conteúdo bastante ressequido e repleto	
993 (24232)	3 x 2	Mais escuro	+	-	Cor de beterraba	Mucosa espessada de cor vermelho-escura, conteúdo escuro	-	-	-	
995 (24233)	6 x 1 1,5 x 1	-	-	-	Coloração de beterraba	-	-	-	-	
<i>Experimentos com mais de 2 administrações</i>										
998 (24242)	2 x 23	Bem escuro (marrom-preta)	-	-	Levemente escuros	-	-	-	-	
999 (24243/44)	3 x 14	Muito escuro (verde musgo escura)	-	-	Rins escuros, com tonalidade um pouco mais avermelhada	-	Com mucosa de cor vermelho-escura	-	-	

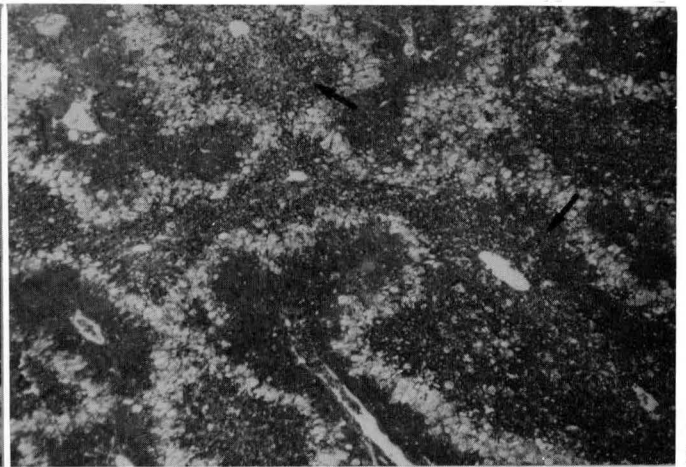
^a + Alteração presente, - alteração ausente.

Nos coelhos que adoeceram, mas se recuperaram, os primeiros sintomas foram observados dentro de 24 (Coelhos 794, 982, 989, 990, 994) ou no máximo até 72 horas (Coelhos 762, 797, 810) após a administração da planta e

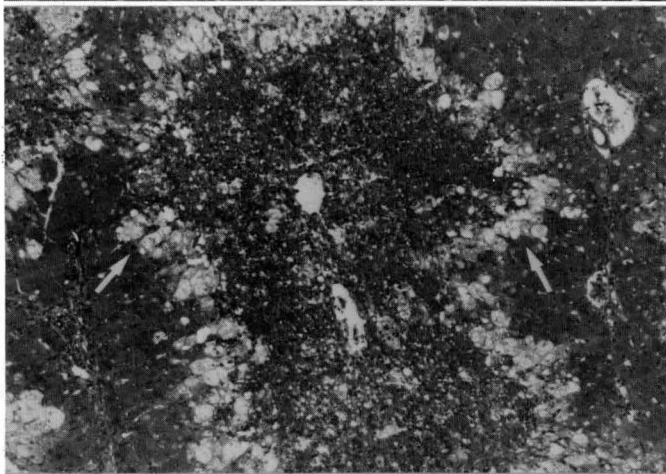
consistiram em anorexia e diminuição da quantidade e tamanho das fezes que, por vezes, ficavam mais escuras. Os animais se recuperaram, no máximo, até 8 dias após a administração da planta.



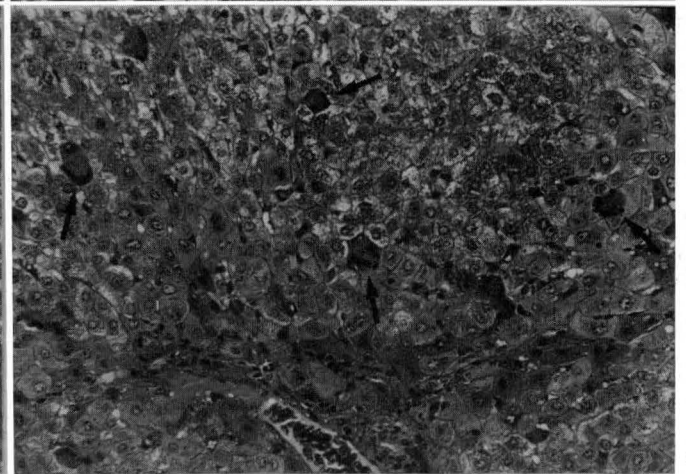
1



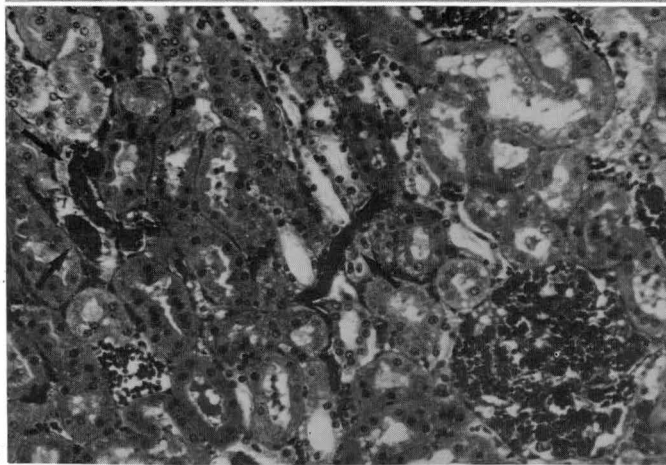
2



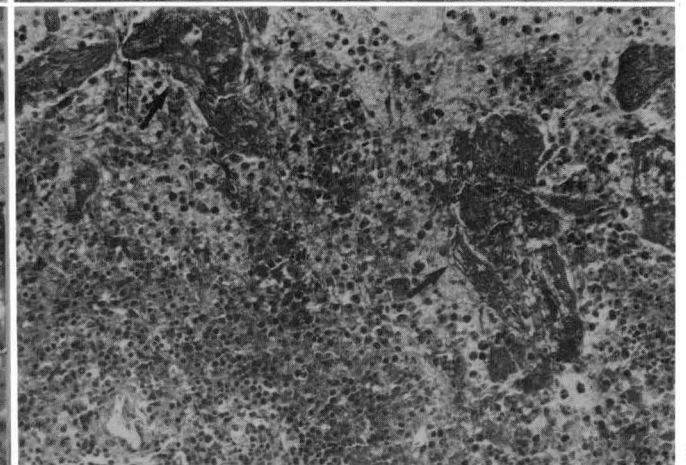
3



4



5



6

Fig. 1. Necrose massiva da porção superficial da mucosa (setas) e leve edema da submucosa do estômago. Intoxicação experimental por *Thiloa glaucocarpa* (folhas) (Coelho 605, SAP 22748). HE, obj. 2,5.

Fig. 3. Lesão mostrada na Fig. 2, com maior aumento, detalhando a larga faixa de hepatócitos tumefeitos ou em lise (setas). (Coelho 995, SAP 24233). HE, obj. 6,3.

Fig. 5. Trombos hialinos em pequenos vasos no córtex renal (setas). Intoxicação experimental por *T. glaucocarpa* (folhas) (Coelho 608, SAP 22734). HE, obj. 16.

Fig. 2. Fígado com necrose e hemorragia centrolobulares (setas), circundadas por larga faixa de hepatócitos muito tumefeitos ou em lise. Intoxicação experimental por *T. glaucocarpa* (folhas) (Coelho 995, SAP 24233). HE, obj. 2,5.

Fig. 4. Acúmulo de pigmento de cor marrom-amarelado no citoplasma de células multinucleadas (setas). Intoxicação experimental por *T. glaucocarpa* (folhas) (Coelho 999, SAP 23244). HE, obj. 16.

Fig. 6. Trombos em vénulas e seios do baço (setas). Intoxicação experimental por *T. glaucocarpa* (folhas) (Coelho 602, SAP 22703). HE, obj. 16.

Quadro 4. Experimentos em coelhos com extratos (taninos) obtidos de *Thiloa glaucocarpa*

Coelho		Extrato administrado				Sintomas				
Nº (reg. SAP)	Peso	Série	Data	Quantidade (g)	Dose (g/kg)	Início dos sintomas após (1ª) administração	Evolução	Morte após (1ª) administração	Recuperado após administração do extrato (Após ...)	Manifestações
<i>Experimentos com administrações únicas</i>										
955 (23977)	3180	1ª	10.10.86	6,36	2	13h	25h30 min	38h30 min	-	Completa anorexia e ausência de fezes. No 2º dia do experimento à noite foi encontrado morto
921	3440	1ª	14.10.85	3,44	1	-	-	-	-	Sem sintomas
992 (24296)	3620	2ª	11.08.87	3,62	1	→ 24h	± 11h	35h	-	Anorexia, menor quantidade de fezes; durante os últimos 15 min. caiu em decúbito lateral, fez movimentos de pedalagem, deu gritos e morreu
996 (24283)	3040	2ª	29.07.87	6,08	2	± 24h	10h15 min	34h15 min	-	Anorexia completa e sonolência. Foi encontrado morto
1007	3420	2ª	13.08.87	1,71	0,5	± 48h	± 48h	-	4 dias	Anorexia passageira e menor quantidade de fezes
<i>Experimentos com 2 administrações</i>										
973 (24004)	3170	1ª	22.10.86 23.10.86	3,17 3,17	1 1	27h	6h	33h	-	Anorexia acentuada e sonolência. Morreu em decúbito esterno-abdominal
<i>Experimentos com mais de 2 administrações</i>										
895 (24035)	3140	1ª	24.10-31.10.86 01.11.86 02.11.86	1,57 x 8 3,2 4,0	0,5 x 8 1 1,2	13 dias	48h	Sacrificado em 8.12.86	15 dias	Em 5 e 6.11.87 leve anorexia e quantidade de fezes diminuída
1007 (24324)	3400	2ª	10.09-16.09.87	1,7 x 7	0,5 x 7	± 72h	48h	Sacrificado no 8º dia do experimento	5 dias	Anorexia moderada e quantidade diminuída de fezes nos 4º e 5º dias do experimento. Em seguida se recuperou apesar da continuação das administrações
1012 (24330)	2660	2ª	17.09-19.09.87	2,05 x 3	0,75 x 3	± 48h	± 12h	2 dias e meio	-	Anorexia e menor quantidade de fezes. Encontrado morto
1013 (24322)	2900	2ª	10.09-14.09.87	1,45 x 5	0,5 x 5	± 24h	3 dias e meio	4 dias e meio	-	Anorexia progressiva e quantidade de fezes diminuída. Nos últimos minutos antes de morrer debateu-se um pouco
1016 (24307)	3060	2ª	19.08-25.08.87	1,53 x 7	0,5 x 7	± 24h	6 dias	7 dias	-	Anorexia bastante acentuada; quase não defecou; últimos 2 dias com sonolência. Amanheceu morto no 8º dia
1021 (24365)	2740	2ª	23.09-29.09.87	1,4 x 7	0,5 x 7	± 4 dias	4 dias	Sacrificado no 9º dia do experimento	8 dias	Do 5º ao 8º dia do experimento não comeu nada; fezes em quantidade pequena sob forma de bolotas de tamanho médio a pequeno. No 9º dia recuperação do apetite, maior quantidade de fezes

sionalmente, alguns núcleos em picnose eram vistos. Com freqüência, células muito tumefeitas evoluíam para a lise (vide abaixo). Por vezes, células em apoptose (vide abaixo) eram vistas em meio às áreas de tumefação, notadamente nos casos em que esta se mostrava mais acentuada. Vacuolização do citoplasma de hepatócitos, embora relativamente freqüente (6 casos), não constituiu uma alteração muito importante, porquanto sempre apareceu com intensidade leve a moderada. Grandes e/ou pequenos vacúolos eram vistos no citoplasma de hepatócitos, ora nas zonas centrais, ora nas zonas intermediárias e periféricas dos lóbulos hepáticos. Presença de massas eosinofílicas homogêneas no citoplasma de hepatócitos ocorreu em 4 casos. Essas massas possuíam forma mais ou menos arredondada, porém não eram bem delimitadas; variavam muito de tamanho e eram mais freqüentes em hepatócitos fortemente tumefeitos. Lise de hepatócitos foi um achado freqüente (7 casos) e esteve intimamente relacionada com a tumefação de hepatócitos, pois somente ocorreu em áreas onde a tumefação estava presente. A lesão era sempre de carácter focal, atingindo grupos de células ou células isoladas e caracterizava-se por dissolução celular (ruptura da membrana), sem figuras de picnose ou cariorrexia; os detritos celulares permaneciam em meio aos outros hepatócitos. Apoptose de hepatócitos ocorreu não muito freqüentemente (4 casos) e era representada por necrose individual de células, isto é, hepatócitos isolados mostravam citoplasma bastante eosinofílico, condensado, não se divisava a membrana nuclear e, por vezes, restos de cromatina eram visíveis dentro da célula necrótica.

Com relação à distribuição, a lesão aparecia principalmente nas zonas intermediárias e, por vezes, também nas zonas centrais dos lóbulos hepáticos. Necrose massiva de hepatócitos, com figuras de picnose e cariorrexia, foi observada em 5 casos. A lesão atingia preferencialmente as zonas centrais e parte das zonas intermediárias, e nestas áreas mostrava-se difusa, afetando praticamente todos os hepatócitos. Presença de microtrombos nos sinusóides e veias sublobulares do fígado foi observada em 6 casos. Os microtrombos apresentavam-se como estruturas eosinofílicas esféricas de diversos tamanhos, ora homogêneas, ora granulares, que, com freqüência, eram acompanhados por agregados de trombócitos. Congestão e/ou hemorragias foi uma alteração relativamente freqüente, aparecendo em 6 casos. Geralmente, ocorria acompanhando as áreas de necrose massiva, ou seja, o sangue acumulava-se entre os hepatócitos necróticos; em um único caso (Coelho 601) observou-se congestão sem a presença de necrose. Em todos os casos, o sangue tendia a acumular-se nas áreas centrais dos lóbulos hepáticos.

No rim, a lesão mais freqüentemente encontrada foi a degeneração albuminosa-granular de células epiteliais tubulares da cortical e da junção córtico-medular, vista em 5 casos. As células afetadas mostravam-se um pouco tumefeitas, com citoplasma granular, sem, contudo, se evidenciarem alterações nucleares. Em apenas 2 casos, observou-se necrose de células epiteliais em alguns poucos túbulos isolados. As células epiteliais mostravam-se sem núcleo ou com núcleo em picnose ou cariorrexia; raramente os túbulos dissolviam-se como um todo, isto é, fi-

Quadro 5. Achados de necropsia na intoxicação experimental por extratos (taninos) de *Thiloa glaucocarpa* em coelhos

Coelho Nº (reg. SAP)	Extrato administrado (g/kg)	Fígado		Rins		Aparelho digestivo				
		Coloração	Lobulação nítida	Claros	Escuros	Estômago	Intestino delgado	Ceco	Cólon	
<i>Experimentos com administrações únicas</i>										
955 (23977)	2	-	+(a)	+	-	-	-	Com conteúdo um pouco ressequido	-	-
992 (24296)	1	-	+	-	-	-	-	-	-	-
996 (24283)	2	-	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Experimentos com 2 administrações</i>										
973 (24004)	1 x 2 ^(b)	-	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Experimentos com mais de 2 administrações</i>										
895 (24035)	0,5 x 8 1 x 1 1,2 x 1	Muito escuro	-	-	-	-	-	-	-	-
1007 (24324)	0,5 x 7	Levemente escuro	-	-	Levemente escuros	-	Na parte inicial com mucosa escura	-	-	-
1012 (24330)	0,75 x 3	-	+	+	-	-	-	-	-	-
1013 (24322)	0,5 x 5	Escuro	+	-	-	Parede da região fúndica levemente espessada e com mucosa um pouco rugosa de cor cinza-amarelada	Parede duodenal moderadamente espessada	Conteúdo com cor marrom-avermelhada	-	-
1016 (24307)	0,5 x 7	Escuro	+	-	Cortical escura	Áreas da mucosa embebidas de sangue	-	Dilatado e com conteúdo abundante e ressequido	-	-
1021 (24365)	0,5 x 7	Bem escuro	+	-	-	-	-	Com conteúdo mole e um pouco escuro	-	-

(a) + Alteração presente, - alteração ausente;

(b) 1 x 2 = 1 g/kg em 2 dias consecutivos.

cavam constituídos apenas pela membrana basal e uma massa eosinofílica amorfa ou granular. Congestão renal foi vista em 3 casos; os glomérulos mostravam-se particularmente mais congestionados que os vasos do interstício. Hemorragias foram observadas em apenas um caso e se faziam para dentro dos espaços de Bowmann e interstício. Adicionalmente, apareceram ainda trombos nos glomérulos e vênulas renais em 2 casos e cilindros granulares nos túbulos do córtex e da medula, também em 2 casos. No baço, observou-se congestão em 7 casos. Também em 7 casos, ocorreu a presença de trombos, ricos em fibrina, dentro de capilares, seios e vênulas do baço. Nos trombos maiores, além de fibrina, encontravam-se hemácias e leucócitos. Com freqüência, os trombos obstruíam boa parte das estruturas vasculares acima mencionadas.

No pulmão, observaram-se congestão (3 casos), edema (2 casos), hemorragias (2 casos), trombos em capilares e pequenas vênulas (2 casos), presença de muitos megacariócitos nos capilares (2 casos) e atelectasia focal (1 caso). No coração, em um único caso (Coelho 608), microtrombos foram vistos em capilares e vênulas.

No coelho que adoeceu, se recuperou e foi posteriormente sacrificado (Coelho 990), os exames histopatológicos revelaram discretos focos de necrose, com reação in-

flamatória e pequena quantidade de pigmento no intestino delgado e leve tumefação de hepatócitos.

Experimentos com 2 administrações

Os 3 coelhos que receberam doses iguais (3 g/kg) em 2 dias seguidos (Coelho 956, 987, 993), bem como um 4º que recebeu dose de 6 g/kg no 1º dia e dose de 1,5 g/kg no 3º dia (Coelho 995), adoeceram e morreram. Os primeiros sintomas foram observados dentro de aproximadamente 24 horas após a administração da planta. O prazo entre a primeira administração e a morte foi de 48 horas nos 3 primeiros e de 72 horas no 4º coelho. Os sintomas observados nesses 4 animais foram anorexia e eliminação de pequena quantidade de fezes sob forma de pequenas esferas.

Os achados de necropsia nesses 4 coelhos foram: estômago com mucosa espessada, de cor vermelho-escura e com conteúdo escuro em 1 coelho (993), cólon repleto com conteúdo bastante ressequido em outro (Coelho 987), fígado mais escuro (Coelhos 956, 993), e/ou com lobulação nítida (956, 987, 993), rim com coloração de beterraba em 2 coelhos (993, 995).

As alterações histológicas observadas nesses 4 animais revelaram necrose da mucosa do estômago em 3 casos,

Quadro 6. Achados histológicos na intoxicação experimental com extratos da *Thiloa glaucocarpa* em coelhos

Coelho Nº (reg. SAP)	Dose (g/kg)	Condição	Tubo digestivo																						
			Fígado			Rim			Baço																
			Edema da mucosa e submucosa	Congestão e/ou hemorragias	Necrose da mucosa	Reação inflamatória	Presença de pigmento	Tumefação de hepatócitos	Vacuolização de hepatócitos	Massas eosinofílicas intraplasmáticas	Lise de hepatócitos	Apoptose	Necrose massiva	Microtrombos	Congestão e/ou hemorragias	Presença de pigmento	Degeneração albuminosa granular	Necrose do fígado	Congestão	Hemorragias	Congestão	Trombos			
Experimentos com administração única																									
955	2 x 1	Morreu	-	-	-	-	-	p++(+)	p++(+)	p++(+)	-	-	e(+)	-	ei++(+)	-	+	-	+	-	-	+	+++		
(23977)																									
992	1 x 1	Morreu	-	-	-	-	-	p+	-	p+	-	-	ei+++	-	d+	-	+	-	+	-	+	+++	+++		
(24296)																									
996	2 x 1	Morreu	-	-	-	-	-	p++(+)	ip(+)	p+	-	d++(+)	-	+	ei++(+)	-	-	(+)	++(+)	-	+	+++	+++		
(24283)																									
Experimentos com 2 administrações																									
173	1 x 2	Morreu	-	-	-	I+	IE+	d++	d++	d++	d+++	ci+	-	-	+++	-	+	-	-	-	-	-	-		
(24004)																									
Experimentos com mais de 2 administrações																									
895	0,5 x 1	Sacrificado	-	-	-	-	-	d+	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-		
(24035)																									
1007	1 x 1	Sacrificado	-	-	-	I+(+)	I+++	p+	c+	-	-	i(+)	-	-	-	d+++	-	-	-	-	-	-	-		
(24324)																									
1012	0,75 x 3	Morreu	-	-	-	I+	-	p+	p+	-	p++	-	i+++	+	ei+++	-	-	-	-	-	-	-	-		
(24330)																									
1013	0,5 x 5	Morreu	-	-	-	I+	-	p++(+)	ip(+)	-	i++(+)	i++(+)	-	-	ei++	-	+	-	-	-	-	-	-		
(24322)																									
1016	0,5 x 7	Morreu	-	-	-	I+	I+	p+	p+	-	i+	d+	-	-	ei+++	d++	-	-	-	-	-	-	-		
(24306)																									
1021	0,5 x 7	Sacrificado	-	-	-	I+	I+	ip+	ip+	-	-	ip++(+)	-	-	ei++(+)	d+++	-	-	-	-	-	-	-		
(24365)																									

(a) p = peritubular, i = zona intermedifária do fígado, e = centrolobular, d = difusa;
 (b) ++ = Lesão acenuada, + = moderada, + leve, - ausente, (+) discreta, meio grau;
 (c) I = Intestino delgado, E = estômago.

em um deles, adicionalmente, também no intestino delgado, e somente da mucosa do intestino delgado em 1 caso. Reação inflamatória predominantemente neutrocitária somente foi encontrada nos 2 casos em que a necrose era mais intensa, estando ausente nos casos em que a necrose era discreta. Congestão e/ou hemorragias apareceram uma única vez, no intestino delgado. Presença de pigmento marrom-amarelado foi observada nos mesmos casos e mesmos locais onde ocorreu a necrose. No fígado, a tumefação de hepatócitos esteve presente em todos os casos e a vacuolização citoplasmática em apenas 2 casos. Massas eosinofílicas arredondadas dentro do citoplasma de hepatócitos foram observadas em apenas 1 caso, enquanto que lise de hepatócitos esteve presente em 3 casos. Do mesmo modo, apoptose apareceu em apenas 1 caso e a necrose massiva ocorreu em 3 casos. Microtrombos foram vistos em 1 caso e congestão e/ou hemorragias em 3 casos. No rim, degeneração albuminosa granular estava presente em 2 casos, necrose de células epiteliais tubulares em 1 caso e congestão e hemorragias em 3 casos. Adicionalmente, foram vistos cilindros hialinos em 1 caso e granulares em outro, nos túbulos uriníferos da cortical e da medular. No baço, congestão e presença de trombos foram encontradas em todos os 4 casos. No pulmão, observaram-se congestão em 2 casos, hemorragias em 2 casos, atelectasia focal em 1 caso e presença de muitos megacariócitos nos capilares também em 1 caso.

Experimento com mais de 2 administrações

Os 2 coelhos que receberam mais de 2 doses diárias (Coelhos 998 e 999) não adoeceram e foram sacrificados no dia seguinte à última administração. À necropsia, foram encontrados fígado e rins escuros em ambos; a mucosa do duodeno era de cor vermelho-escuro em um animal (Coelho 999) e os músculos da região paraesofágica e intercostais de cor cinza-escuro em outro (Coelho 998).

Os exames histológicos revelaram discretos focos de necrose com congestão e hemorragias no intestino delgado de 1 animal. Pequenas quantidades de pigmento marrom-amarelado foram identificadas em um animal no estômago e em outro no intestino delgado. No fígado, leve tumefação de hepatócitos foi encontrada nos 2 animais. Presença de um pigmento marrom-amarelado também foi identificada nas células de Kupffer e em células multinucleadas, entre as trabéculas, também em ambos. No rim, leve degeneração albuminosa granular e um pequeno número de túbulos com necrose foram observados também nos 2 animais. No baço, em 1 caso, evidenciou-se a presença de pigmento nas células reticulares, idêntico ao encontrado no fígado, e no outro, congestão.

Experimentos com os extratos (taninos) de Thiloa glaucocarpa

Foram feitas duas séries de experimentos com a Fração 3 obtida em duas operações.

Experimentos de administrações únicas

Dos 5 coelhos que receberam doses únicas, 4 adoce-

ram, dos quais 3 morreram e um se recuperou. A menor dose do extrato necessária para causar a morte foi 2 g/kg na 1ª série (Coelho 955) e 1 g/kg na 2ª série (Coelho 992).

Nos experimentos de doses únicas que alcançaram êxito letal, os coelhos adoeceram entre 13 e 24 horas e a morte se deu entre 34h 15min. e 38h 30min. após a administração da planta. Os sintomas observados foram principalmente anorexia e ausência ou diminuição na quantidade de fezes.

No único coelho que adoeceu e se recuperou (Coelho 1007), foi observada anorexia passageira e eliminação de menor quantidade de fezes; o animal foi considerado recuperado 4 dias após a administração da planta. Posteriormente, esse animal recebeu administrações repetidas da planta.

À necropsia, foram encontradas alterações principalmente no fígado, que apresentava lobulação nítida, em todos os 3 coelhos que morreram. Em 1 deles (Coelho 955), foi observado ainda que os rins estavam mais claros e o conteúdo do ceco um pouco ressequido.

Histologicamente, não se observaram quaisquer lesões no tubo digestivo dos 3 coelhos necropsiados. No fígado observou-se tumefação de hepatócitos nas zonas periféricas dos lóbulos hepáticos em todos os 3 casos, vacuolização de hepatócitos e presença de massas eosinofílicas intracitoplasmáticas em 2 casos, lise de hepatócitos e congestão e/ou hemorragias nos 3 casos, apoptose e presença de microtrombos em 1 caso e necrose massiva de hepatócitos em 2 casos. No rim, degeneração albuminosa granular esteve presente em 2 casos, necrose das células epiteliais de poucos túbulos contornados em apenas 1 e congestão em todos os 3 casos. Além dessas lesões, evidenciou-se em 1 caso a presença de cilindros hialinos dentro de túbulos, principalmente na medular do rim. No baço, observaram-se congestão e trombos em todos os 3 casos. No pulmão, presença de congestão, edema e microtrombos em 1 caso.

Experimentos com 2 administrações

Só um animal (Coelho 973) recebeu 2 administrações. Foi-lhe administrado 1 g/kg por dia em 2 dias consecutivos (1ª série). Os primeiros sintomas foram observados 27 horas após a 1ª administração do extrato. O prazo entre a primeira administração e a morte foi de 33 horas. Os sintomas foram anorexia acentuada e sonolência.

À necropsia, o fígado mostrava lobulação nítida e os rins estavam mais claros.

Histologicamente, observou-se necrose da porção superficial da mucosa do intestino delgado, acompanhada de reação inflamatória e presença de pigmento marrom-amarelado na luz e na mucosa do intestino delgado. No estômago, o pigmento acima referido foi encontrado, porém não outras lesões. No fígado, encontraram-se tumefação, vacuolização e lise de hepatócitos; congestão e/ou hemorragias, massas eosinofílicas intracitoplasmáticas e apoptose também estiveram presentes. No rim observou-se degeneração albuminosa granular.

Experimento com mais de 2 administrações

Um coelho (895) recebeu 0,5 g/kg por dia, durante 8 dias, no 9º dia 1 g/kg e no 10º dia 1,2 g/kg. Esse coelho pertenceu à 1ª série.

Quatro coelhos (1007, 1013, 1016, 1021) receberam 0,5 g/kg por dia, durante 5 a 7 dias, um coelho (1012) 0,75 g/kg por dia, durante 3 dias. Todos esses coelhos pertenceram à 2ª série.

O coelho 895 adoeceu levemente 72 horas após a 10ª administração (que foi de 1,2 g/kg), e mostrou sintomas por 2 dias, depois se recuperou; as administrações anteriores não causaram o aparecimento de sintomas. Esse coelho foi sacrificado no 6º dia após a suspensão da administração dos extratos.

Os coelhos 1012, 1013 e 1016 morreram. Os coelhos 1007 e 1021 adoeceram 72 e 96 horas após a 1ª administração e mostraram sintomas durante 2 e 4 dias, respectivamente, e se recuperaram, o primeiro apesar da continuação das administrações diárias do extrato, o segundo após sua suspensão. Esses 2 coelhos foram sacrificados no 8º e 9º dias do experimento, respectivamente, ambos após terem recebido 7 administrações diárias.

Nos experimentos com êxito letal, os coelhos adoeceram dentro de 24 a 48 horas e a morte se deu dentro de 2 e meio a 7 dias após a 1ª administração do extrato. Os principais sintomas mostrados tanto pelos coelhos que morreram como pelos que se recuperaram, foram principalmente anorexia e quantidade de fezes diminuída.

Os achados de necropsia nos 3 coelhos que morreram foram: estômago com parede da região fúndica levemente espessada e com a mucosa um pouco rugosa e de cor cinza-amarronzada em 1 coelho (1013), com áreas da mucosa estomacal embebidas de sangue em outro (1016); parede duodenal moderadamente espessada em 1 coelho (1013), ceco dilatado com conteúdo abundante e ressequido em 1 coelho (1016) e com conteúdo de cor marrom-avermelhada em outro (Coelho 1013). O fígado apareceu mais escuro em 2 coelhos (1013, 1016), com lobulação mais nítida nos 3 coelhos; os rins estavam mais escuro em 1 coelho (1016) e mais claros em outro (1012). Nos 3 coelhos que se recuperaram e foram sacrificados (Coelhos 895, 1007, 1021), observou-se que a parte inicial do intestino delgado estava com a mucosa escura em 1 coelho (1007), o conteúdo do ceco um pouco escuro em outro (Coelho 1021), o fígado estava mais escuro em todos 3, em um, adicionalmente, a lobulação era nítida (Coelho 1021), em outro (Coelho 1007) os rins estavam mais escuros.

Histologicamente, encontrou-se no intestino delgado dos 3 animais que morreram (1012, 1013, 1016), necrose da porção superficial da mucosa com reação inflamatória e presença de pigmento marrom-amarelado em 1 deles (Coelho 1016). No fígado de todos os 3 animais, observaram-se tumefação de hepatócitos e congestão e/ou hemorragias, em 2 deles vacuolização e lise de hepatócitos (Coelhos 1012, 1016), apoptose também em 2 casos (Coelhos 1013, 1016), em 1 presença de massas eosinofí-

licas intracitoplasmáticas (Coelhos 1013) e em outro presença de microtrombos nos vasos hepáticos (1012). Necrose massiva de hepatócitos ocorreu nos animais de números 1012 e 1013. No coelho 1016, observaram-se, adicionalmente, leve cirrose hepática com proliferação de tecido conjuntivo a partir dos espaços-porta, que, por vezes, penetrava entre os lóbulos, bilestase, leve megalocitose e desaparecimento de grupos de hepatócitos, com preenchimento dos espaços por sangue. No rim, observou-se degeneração albuminosa granular de células epiteliais tubulares em um caso (Coelho 1013). No baço, a congestão esteve presente em todos os 3 casos e os trombos em 1 caso (1016). No pulmão, encontrou-se congestão (1012 e 1016) e edema e hemorragias (1012).

Nos 3 animais sacrificados (Coelhos 895, 1007, 1021) observaram-se no intestino delgado congestão e/ou hemorragias em 1 animal (Coelho 1007), infiltrados inflamatórios predominantemente neutrocitários e presença de pigmento marrom-amarelado em 2 (Coelhos 1007, 1021). Adicionalmente, observou-se presença de células multinucleadas contendo pigmento marrom-amarelado, na submucosa do intestino delgado (Coelho 1007). No fígado, encontraram-se tumefação de hepatócitos em todos os 3 casos, vacuolização de hepatócitos em 1 deles (Coelho 1007), apoptose em 2 (Coelhos 1007, 1021) e presença de pigmento marrom-amarelado nas células de Kupffer e em células multinucleadas em todos os 3 animais. Adicionalmente, 1 animal (Coelho 1021) apresentou leve megalocitose e algumas células em mitose. No baço, apareceu congestão em apenas 1 caso (Coelho 1021).

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Foi verificado que o coelho é sensível à intoxicação pelas folhas de *Thiloa glaucocarpa*. Tanto com as administrações únicas como com as repetidas, predominavam no quadro clínico-patológico alterações relativas ao tubo digestivo e ao fígado, e havia, em bem menor intensidade, lesões renais.

Verificou-se que o coelho também é sensível à intoxicação pela Fração 3 (taninos) obtida das folhas de *T. glaucocarpa*. De maneira semelhante ao que se observou nos experimentos com as folhas, tanto nas administrações únicas como nas repetidas, também predominavam alterações hepáticas, e havia, em bem menor intensidade, lesões renais; nos experimentos com administrações repetidas havia ainda alterações do tubo digestivo.

Analisando mais minuciosamente as alterações microscópicas encontradas nos experimentos com as folhas e extratos de *T. glaucocarpa*, verifica-se que, embora algumas diferenças ocorram, as alterações são, em sua essência, as mesmas. Com relação ao tubo digestivo, nos experimentos com administrações únicas das folhas, aparecem alterações necróticas, hemodinâmicas e inflamatórias. Nos experimentos correspondentes, realizados com doses únicas dos extratos, essas alterações não estavam presentes; por outro lado, essas mesmas alterações, observadas nos animais que receberam administrações úni-

cas das folhas, foram, com exceção do edema, idênticas às encontradas nos animais que receberam administrações duplas e repetidas dos extratos. Além disso, o pigmento observado na mucosa de partes do tubo digestivo de animais que receberam administrações das folhas (administrações únicas, duplas e repetidas), por vezes até fagocitado, é morfológica e tintorialmente muito semelhante ao encontrado no tubo digestivo dos animais que receberam doses duplas e repetidas dos extratos. No que se refere ao fígado, as lesões histológicas são idênticas nos experimentos com folhas e extratos, tanto nos experimentos com doses únicas, como nos experimentos com doses duplas e repetidas. Cabe ressaltar que o pigmento, presumivelmente oriundo da planta, encontrado nas células de Kupffer, nos hepatócitos e nas células multinucleadas, além de ser morfológica e tintorialmente semelhante nos experimentos com administrações repetidas das folhas e extratos, também o era em relação ao pigmento observado no tubo digestivo, em ambos os experimentos (com as folhas e com os extratos).

Esses achados sugerem fortemente ou até mesmo provam que o princípio ativo contido nas folhas, responsável pelo quadro clínico-patológico nos coelhos, também estava contido nos extratos. Embora o pigmento tenha sido encontrado no tubo digestivo, junto as áreas de necrose, em animais que receberam administrações das folhas em doses únicas, duplas e repetidas, e em animais que receberam administrações duplas e repetidas dos extratos, é provável que esse pigmento não seja o responsável direto pela necrose, uma vez que foi encontrado no fígado de alguns animais que não mostravam necrose hepática, tanto nos experimentos repetidos com as folhas (Coelhos 998, 999), como nos experimentos de administrações repetidas com os extratos (Coelhos 895, 1007). Com base no quadro patológico, pode-se concluir que as lesões digestivas, hepáticas e renais, bem como as lesões de outros órgãos, se devem, direta ou indiretamente, à ação do princípio tóxico contido nas folhas e extratos de *T. glaucocarpa*.

Fala-se em ação indireta da planta ou dos extratos, porque, em parte dos animais, aparecem lesões características de choque, notadamente as observadas na "coagulação intra-vascular disseminada", à qual o choque pode estar ligado. Presença de microtrombos em vasos hepáticos, associada à congestão e/ou hemorragia, é altamente sugestiva de um quadro de choque, secundário à ação do princípio tóxico. É possível que as alterações degenerativo-necróticas no tubo digestivo e fígado tenham sido responsáveis pelo desencadeamento deste quadro de choque.

As outras alterações hepáticas podem ser atribuídas diretamente à ação do princípio tóxico contido nas folhas e extratos. Por exemplo, há casos em que existe necrose massiva sem congestão (Coelho 995) e outros em que a necrose é acentuada e a congestão apenas leve (Coelhos 993, 992). O mesmo raciocínio pode ser seguido para as outras alterações hepáticas com relação à congestão, em função de que esta é obrigatória nos quadros de choque.

Alterações, por vezes observadas em outros órgãos, sença de microtrombos nos capilares pulmonares, e como congestão, edema e hemorragias pulmonares, pre- gestão esplênica com presença de trombos, reforçam so-

Quadro 7. *Intoxicação experimental em bovinos, ovinos, caprinos e coelhos por plantas hepato e nefrotóxicas do Brasil*

Estado da planta	Dose letal, correspondente ao peso da planta fresca	Morte após (início da) administração da planta	Lesões hepáticas	Lesões renais
<i>Experimentos com Vernonia mollissima</i>				
<i>Administração a bovinos</i> (Döbereiner et al. 1976, Gava et al. 1987)				
Fresca	10-30 g/kg x 1	45-52 h	+++ ^a 4/4 ^b	--- 4/4
Dessecada	20-30 g/kg x 1	20-49 h	+++ 3/3	--- 3/3
Dessecada	10 g/kg x 1	87 h	++ 1/1	+ 1/1
Dessecada	5 g/kg x 10/11	13 dias	++ 2/2	+++ 2/2
<i>Administração a ovinos</i> (Gava et al. 1987)				
Dessecada	5-10 g/kg x 1	19-42 h	+++ 5/5	--- 5/5
<i>Administração a caprinos</i> (Stolf et al. 1987)				
Dessecada	5-10 g/kg x 1	< 48 h	+++ 7/7	+ 7/7
	2,5 g/kg x 1	aprox. 120h	++ 2/2	+++ 2/2
<i>Administração a coelhos</i> (Tokarnia et al. 1986)				
Dessecada	0,5-4 g/kg x 1 ^c	3-12 dias	+++ 6/10 ++ 4/10	+++ 8/10 + a ++ 2/10
<i>Experimentos com Vernonia rubricaulis</i>				
<i>Administração a bovinos</i> (Tokarnia & Döbereiner 1982)				
Fresca	20-30 g/kg x 1	44-46 h	+++ 2/2	+++ 2/2
Dessecada	30 g/kg x 1	51 h	+++ 1/1	+++ 1/1
<i>Experimentos com Vernonia squarrosa</i>				
<i>Administração a bovinos</i> (Tokarnia & Döbereiner 1983)				
Fresca	21-50 g/kg x 1	32-66 h	+++ 3/3	++ 1/3
Dessecada	80 g/kg x 1	10 dias	+ 1/1	+++ 1/1
<i>Administração a ovinos</i> (Tokarnia & Döbereiner 1983)				
Fresca	30-40 g/kg x 1	36-67 h	+++ 4/4	+++ 2/4
<i>Experimentos com Dimorphandra mollis</i>				
<i>Administração a bovinos</i> (Tokarnia & Döbereiner 1967)				
Favas maduras	25 g/kg x 1	7-14 dias	--- 5/5	+++ 5/5
<i>Experimentos com Dimorphandra gardneriana</i>				
<i>Administração a bovinos</i> (Döbereiner et al. 1985)				
Favas maduras	30 g/kg x 1	8 dias	--- 2/2	+++ 2/2
<i>Experimentos com Thilao glaucocarpa</i>				
<i>Administração a bovinos</i> (Tokarnia et al. 1981)				
Fresca	Méd. diária 19 g/kg x 4	4 dias	?	+++ 1/1
	38,9 g/kg x 1	4 dias	+++ 1/1 ^d	+ 1/1
	40 g/kg x 1	17 dias	+ 1/1	+++ 1/1
	10 g/kg x 1			
	10 g/kg x 5	6 dias	+++ 1/1	+++ 1/1
	20 g/kg x 6	26 dias	+++ 1/1	++ 1/1
<i>Administração a coelhos</i> (Tokarnia et al. 1988)				
Dessecada	2-7 g/kg x 1	10-50 h	+ 1/9 ++ e +++ 6/9	(+) 5/9
	3 g/kg x 2	48 h	+++ 3/3	(+) 1/3
	6 g/kg x 1	72 h	++ 1/1	+ 1/1
	1,5 g/kg x 1			
Extrato	1-2 g/kg	34-38 h	++ 3/3	(+) 3/3
	1 g/kg x 2	33 h	+++ 1/1	(+) 1/1
	0,5-0,75 g/kg x 3-7	2 ¹ / ₂ - 7 dias	+ a +++ 3/3	(+) 1/3 - 2/3

^a +++ Lesão acentuada, ++ moderada, + leve, (+) discreta;

^b Significa que a lesão foi encontrada em 4 dos 4 animais que receberam a planta nessa dosagem;

^c Nos experimentos em coelhos sempre se trata do peso da planta dessecada;

^d Nos casos espontâneos da intoxicação as lesões hepáticas eram menos acentuadas.

bremaneira a hipótese do choque. No que tange às lesões renais, as alterações degenerativo-necróticas devem ser creditadas à ação direta da planta ou dos extratos. Sua distribuição e aspecto morfológico não coincidem com o que tem sido descrito nos casos de choque (Hoffmann 1976). No entanto, a congestão e os microtrombos encontrados no rim podem ser interpretados como parte de um quadro final de choque. As hemorragias e os cilindros hialinos e granulares devem refletir um aumento da permeabilidade vascular.

Uma das alterações histológicas mais interessantes, encontrada tanto nos experimentos com as folhas como nos extratos, foi o aparecimento de trombozes maciças recentes, ocupando boa parte do leito vascular do baço de muitos animais. Interpretamos a lesão como recente não só por sua constituição (principalmente fibrina), mas também por não aparecerem sinais de necrose secundários a ela. Possivelmente, a lesão é devida à estase sanguínea, secundária a uma vasodilatação difusa do leito vascular esplênico, nas fases finais do choque.

Nos experimentos com as folhas (brotação e folhas maduras) observou-se considerável variação da dose letal. Fatores como procedência das amostras, fase de desenvolvimento da planta e variação individual de sensibilidade dos animais, sempre são lembrados como possíveis causas dessa variação (Döbereiner et al. 1984). Através dos experimentos com a brotação em doses únicas, aparecem evidências de que a procedência da planta, que engloba fatores climáticos e de solo, é o fator mais importante dessa variação, no que diz respeito à *T. glaucocarpa*. Amostras procedentes dos municípios de Castelo (Piauí) e Aracati (Ceará) mostraram-se bem mais tóxicas que as coletadas nos municípios de Itinga (Minas Gerais), Mopara (Bahia) e Fortaleza (Ceará).

A variação individual de sensibilidade dos animais como fator na variação da dose letal é sugerida pelos experimentos realizados nos coelhos 605 e 613, com as amostras coletadas em Aracati, e nos coelhos 990 e 1014, com as amostras coletadas no município de Fortaleza. Com relação a fase de desenvolvimento da planta, é difícil estabelecer se há ou não variação da toxidez em função desse fator, de vez que apenas 4 experimentos foram feitos utilizando folhas maduras ou quase maduras de *T. glaucocarpa*. Por esses experimentos pode-se concluir que a Fração 3 (taninos) possui aproximadamente a mesma ação nociva que as folhas quando administrada a coelhos, e que portanto taninos são o princípio tóxico de *T. glaucocarpa* responsável pelo quadro clínico patológico em relação ao coelho. Como a ação nociva das folhas e da Fração 3, que contém os taninos vescalagina (Composto 1) e castalagina (Composto 2) é praticamente a mesma, pode-se suspeitar que os dois outros taninos, stachyurina (Composto 3) e casuarinina (Composto 4), não testados, tenham ação semelhante à dos dois primeiros, testados. A pergunta que surge é se esses taninos são o princípio tóxico responsável pela doença no bovino, pois no quadro clínico-patológico provocado pelas folhas de

T. glaucocarpa no bovino predominam alterações renais (havia também em menor escala alterações do tubo digestivo e do fígado), enquanto que no coelho predominam alterações hepáticas (havia também alterações do tubo digestivo e do rim). Sabemos que muitas substâncias são simultaneamente hepato e nefrotóxicas (Jones & Hunt 1983). Em relação às plantas tóxicas brasileiras, temos algumas observações a esse respeito, conforme se pode ver no Quadro 7. Queremos destacar aqui os dados sobre a ação tóxica obtidos na experimentação com *Vernonia mollissima*, com a qual foi realizado o maior número de trabalhos experimentais, e em que o efeito hepato ou nefrotóxico depende da espécie animal e sobretudo da evolução da intoxicação, se aguda, subaguda ou crônica, que às vezes depende da dose administrada. Nos bovinos e ovinos, uma dose letal de *V. mollissima* causa uma intoxicação aguda com somente lesões hepáticas acentuadas; em um bovino, excepcionalmente, em que a evolução foi mais longa, as lesões hepáticas foram moderadas e havia leves lesões renais. Nos bovinos, doses subletais repetidas diariamente causam uma intoxicação subaguda com predominância de lesões renais sobre as hepáticas. Nos coelhos, uma dose letal causa uma intoxicação subaguda, em que há tanto lesões hepáticas acentuadas como também lesões renais acentuadas, enquanto que nos caprinos, doses únicas mais elevadas causam intoxicação aguda com predominância das lesões hepáticas sobre as renais, e doses únicas menos elevadas causam uma intoxicação de evolução subaguda com predominância de lesões renais. (Döbereiner et al. 1976, Tokarnia et al. 1986, Gava et al. 1987, Stolf et al. 1987)

Na própria intoxicação natural por *T. glaucocarpa* em bovinos, em que predominam alterações renais, há também alterações hepáticas e ainda digestivas. Convém lembrar que, nessa espécie animal, a intoxicação apresenta evolução subaguda. Em um único experimento em que foi administrada uma única dose elevada da planta, a evolução foi de 4 dias, a mais curta entre todos os experimentos por nós realizados em bovinos com essa planta, e nele predominaram alterações hepáticas. (Tokarnia et al. 1981).

Em virtude dessas observações, tentamos, através de administrações repetidas de doses subletais das folhas e extratos de *T. glaucocarpa*, conseguir uma evolução mais lenta, e assim, lesões renais mais acentuadas nos coelhos, porém, não o conseguimos. Verificamos que os coelhos, durante esses períodos de administrações repetidas, adquiriram tolerância à planta e, geralmente, ao final, tinham de ser sacrificados para a verificação das lesões.

Dessa maneira, não se pode assegurar que o princípio tóxico de *T. glaucocarpa* responsável pelo quadro clínico-patológico nos bovinos, seja o mesmo que provoca o quadro clínico-patológico nos coelhos (taninos); entretanto, os experimentos com *Vernonia mollissima* o sugerem. Por outro lado caso o princípio tóxico de *T. glaucocarpa* não seja o mesmo, a explicação que poderia ser dada é de que o coelho poderia ser mais sensível aos ta-

ynos que o bovino e um outro princípio tóxico ao qual o coelho é refratário poderia ser o responsável pelo quadro clínico-patológico no bovino.

REFERÊNCIAS

- Döbereiner J., Peixoto P.V. & Tokarnia C.H. 1984. Intoxicação experimental por *Arrabidaea bilabiata* (Bignoniaceae) em coelhos. *Pesq. Vet. Bras.* 4(3):89-96.
- Döbereiner J., Rezende A.M.L. & Tokarnia C.H. 1976a. Intoxicação experimental por *Baccharis coridifolia* em coelhos. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.*, 11:27-35.
- Döbereiner J., Tokarnia C.H., Gava A. & Consorte L.B. 1985. Intoxicação experimental em bovinos pela fava de *Dimorphandra gardneriana* (Leg. Caesalpinoideae). *Pesq. Vet. Bras.* 5(2):47-51.
- Döbereiner J., Tokarnia C.H., Purisco E. 1976b. *Vernonia mollissima*, planta tóxica responsável por mortandades de bovinos no sul de Mato Grosso. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.*, 11:49-58.
- Gava A., Peixoto P. & Tokarnia C.H. 1987. Intoxicação experimental por *Vernonia mollissima* (Compositae) em ovinos e caprinos. *Pesq. Vet. Bras.* 7(2):33-41.
- Hoffmann R. 1976. Syndrome disseminierter intravasaler Gerinnung (Verbrauchskoagulopathie) bei Haustieren. *Fortschritte der Veterinärmedizin*, Heft. 24. Verlag Parey, Berlin. 98 p.
- Itakura Y., Habermehl G. & Mebs D. 1987. Tannins occurring in the Brazilian plant *Thiloa glaucocarpa*. *Toxicon* 25(12):1291-1300.
- Jones T.C. & Hunt R.D. (1983). *Veterinary Pathology*. 5th ed. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Stolf L., Gava A. & Tokarnia C.H. 1987. Intoxicação experimental por *Vernonia mollissima* (Compositae) em caprinos. *Pesq. Vet. Bras.* 7(3):67-77.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1967. Intoxicação experimental pela fava da "faveira" (*Dimorphandra mollis* Benth.) em bovinos. *Pesq. Agropec. Bras.* 2:367-373.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1982. Intoxicação de bovinos por *Vernonia rubricaulis* (Compositae) em Mato Grosso. *Pesq. Vet. Bras.* 2(4):143-147.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1983. Intoxicação experimental por *Vernonia squarrosa* (Compositae) em ovinos e bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 3(2):45-52.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J., Amorim P.R., Gava A. & Consorte L.B. 1986. Intoxicação experimental por *Vernonia mollissima* (Compositae) em coelhos. *Pesq. Vet. Bras.* 6(1):5-10.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J., Canella C.F.C., Couceiro J.E.M., Silva A.C.C. & Araujo F.V. 1981. Intoxicação de bovinos por *Thiloa glaucocarpa* (Combretaceae) no Nordeste do Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 1(4):111-132.

SURTO DE MICOBACTERIOSE EM CRIAÇÃO DE RÃS (*Rana catesbeiana*) CAUSADO POR *Mycobacterium marinum*¹

GLÊNIO CAVALCANTI DE BARROS², CHARLOTTE HUBINGER LANGENEGGER³,
JEROME LANGENEGGER³ e PAULO VARGAS PEIXOTO³

ABSTRACT.- Barros G.C., Langenegger C.H., Langenegger J. & Peixoto P.V. 1988. [**Outbreak of mycobacteriosis in a frogery caused by *Mycobacterium marinum*.**] Surto de micobacteriose em criação de rãs (*Rana catesbeiana*) causado por *Mycobacterium marinum*. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 8(3/4):75-80. Embrapa-UAPNPSA, Km 47, Seropédica, RJ 23851, Brazil.

An outbreak of mycobacteriosis (tuberculosis) caused by *Mycobacterium marinum* in a colony of *Rana catesbeiana* in the State of Rio de Janeiro is described. The disease was introduced in the frogery by infected animals and, in 3 months, about 50% of 160 animals became contaminated and died. The sick frogs had shown clinically progressive anorexia, apathy, adynamia, having the head lowered and lost weight with the evolution of the disease. The necropsy had shown nodular whitish caseous lesions in livers, spleens, kidneys, rarely in lungs, with variable number and size of the nodules. Microscopically, the lesions were characterized as granulomas in different evolutioning stages. These had origin in epithelioid cell agglomerations which became caseous necrosis later. The so initiated nodules were surrounded by some macrophage cells and by concentric connective tissue layers, limiting the nodules themselves and from the normal adjacent organ tissues. A great number of isolated or aggregated acid-fast bacteria was seen scattered in the nodule structure. The identification of *M. marinum* was based on the cultural and biochemical behaviour, with special regard to the photochromogenicity.

INDEX TERMS: Mycobacteriosis, *Mycobacterium marinum*, frog, outbreak.

SINOPSE.- Foi descrito um surto de micobacteriose causado por *Mycobacterium marinum* numa criação de rãs da espécie *Rana catesbeiana* no Estado do Rio de Janeiro. A doença foi introduzida no ranário através da compra de rãs infectadas e propagou-se em 3 meses a cerca de 50% das rãs de um lote de 160 animais que adoeceram e morreram.

Clinicamente as rãs doentes demonstravam progressiva anorexia, apatia, adinamia e postura cabisbaixa, perdendo peso a medida que a doença evoluía. A necrópsia revelou lesões nodulares caseosas de cor esbranquiçada no fígado, baço e rins, raramente nos pulmões, variando o número e tamanho dos nódulos. Microscopicamente as lesões eram constituídas por granulomas, em vários estágios de evolução. Estes iniciavam-se por aglomerados de células epitelióides que posteriormente eram levados a necrose por caseificação. Os nódulos assim formados eram envoltos por alguns macrófagos e por camadas concêntricas de tecido conjuntivo que delimitavam os nódulos entre si e do tecido normal adjacente do órgão. Grande número de bastonetes isolados ou formando agregados bacterianos, álcool-ácido resistentes, encontravam-se entre as estruturas do nódulo.

A identificação de *M. marinum* baseou-se no comportamento cultural e bioquímico, destacando-se a fotocromogenicidade.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Micobacteriose, *Mycobacterium marinum*, rã, surto.

INTRODUÇÃO

A rã, como vários outros animais de sangue frio, é vítima de infecções espontâneas por micobactérias cujo quadro clínico e anátomo-histológico lembra o da tuberculose. Esta descoberta remonta ao início do século quando Küster (1905) e Rupperecht (1904), na Alemanha, relataram sobre a ocorrência de casos espontâneos de "tuberculose" em rãs da espécie *Rana temporaria*. A micobacteriose caracterizou-se por lesões granulomatosas do fígado contendo grande número de bastonetes álcool-ácido resistentes. O agente causal crescia bem na temperatura de 28 - 30°C e se parecia com *Mycobacterium tuberculosis*. Na ocasião foi designado genericamente como bacilo da tuberculose dos animais de sangue frio. Posteriormente Bergey et al. (1923) reconheceu a micobactéria por *M. ranae*. A inoculação desta cultura em outras rãs e alguns animais de sangue frio reproduziu a doença com lesões hepáticas e pulmonares, mas não mostrou-se patogênica para coelhos, cobaias, ratos e camundongos.

¹ Aceito para publicação em 18 de dezembro de 1987.

Trabalho realizado na Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e na Unidade de Apoio ao Programa Nacional de Pesquisa em Saúde Animal (UAPNPSA), Embrapa, Seropédica, Rio de Janeiro.

² Depto Med. Prev. Epidemiologia, UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851.

³ Embrapa-UAPNPSA, Km 47, Seropédica, RJ 23851.

Vários anos após, Lichtenstein (1920) descreveu outro caso espontâneo de micobacteriose em uma rã, presumivelmente também da espécie *Rana temporaria* (Elkan 1960) de cujas lesões hepáticas foi isolada cultura pura da micobactéria tida então como bacilo da tuberculose da rã. Esta cultura se comportava como a descrita por Küster (1905).

Griffith (1930) também descreveu uma micobacteriose em rãs da espécie *Pseudis paradoxa* portadoras de lesões semelhantes às da tuberculose no fígado. A micobactéria isolada distinguia-se sorologicamente de *M. piscium* (Bataillon et al. 1987), de *M. chelonii* (Friedmann 1903) e de *M. marinum* (Aronson 1926) estas procedentes de peixes e quelônios.

Darzens (1950-52) descreveu uma epizootia de micobacteriose (tuberculose) em rãs da espécie *Leptodactylus pentadactylus*, conhecidas no Estado da Bahia por "gias". Verificou-se que todas as 60 rãs capturadas em poços e bicas d'água de 4 locais diferentes de subúrbios da cidade de Salvador eram portadores de lesões macro e/ou microscópicas, de aspecto nodular, de cor branco-amareladas, em maior ou menor número, afetando principalmente o fígado, mas também os pulmões, o peritônio, o intestino e em alguns casos as mesmas lesões estavam localizadas nas articulações dos membros. As lesões iniciais eram formadas por células mononucleares e histiócitos envoltos por delgada cápsula de tecido conjuntivo fibroso. Nas lesões mais evoluídas o centro do nódulo se transformava em massa caseosa e a periferia em densas camadas concêntricas de tecido conjuntivo, separando nitidamente os nódulos entre si ou estes do tecido normal dos órgãos. O autor chamou a atenção pela ausência de células gigantes de Langhans. Nas lesões foram encontradas numerosas bactérias em forma de bastonetes com acentuada álcool-ácido resistência. As micobactérias isoladas apresentavam características bioquímicas semelhantes às de *M. ranæ*, mas como diferiam um pouco em alguns aspectos morfológicos, tintoriais e culturais, o autor propôs o nome de *M. giae*.

Mais recentemente, Schwabacher (1959) assinalou a presença de lesões tuberculoides em sapo da espécie *Xenopus laevis*, localizadas na pele. A infecção manifestou-se por múltiplas formações granulomatosas envolvendo mais a porção superficial do derma. Histologicamente estas lesões eram constituídas por massas densas de células endotelióides, macrófagos, linfócitos e polimorfonucleares, entremeadas por amontoados de bastonetes álcool-ácido resistentes. A micobactéria isolada, que no meio de cultura de Loewenstein-Jensen revelou colônias lisas, úmidas, semelhantes às de *M. avium*, apresentou comportamento bioquímico diferente das micobactérias atípicas conhecidas, o que levou a autora a denominá-la de *M. xenopi*.

Elkan (1960) relatou também um caso de "tuberculose" em sapo da espécie *Xenopus laevis* com lesões nodulares apenas no rim. Em dois sapos da espécie *Bufo bufo* o mesmo autor encontrou lesões tuberculoides no fígado,

gado, baço, rim, nos pulmões, intestinos e testículos que considerava como tuberculose miliar. Nas lesões foi visto grande número de micobactérias, mas não se refere ao isolamento e identificação destas.

No presente trabalho descreveu-se a ocorrência de um surto de micobacteriose em rãs de uma criação industrial, causada por *M. marinum*, cujo achado ainda não havia sido registrado na literatura e que assume importância também pelos aspectos sanitários e econômicos para a aquicultura.

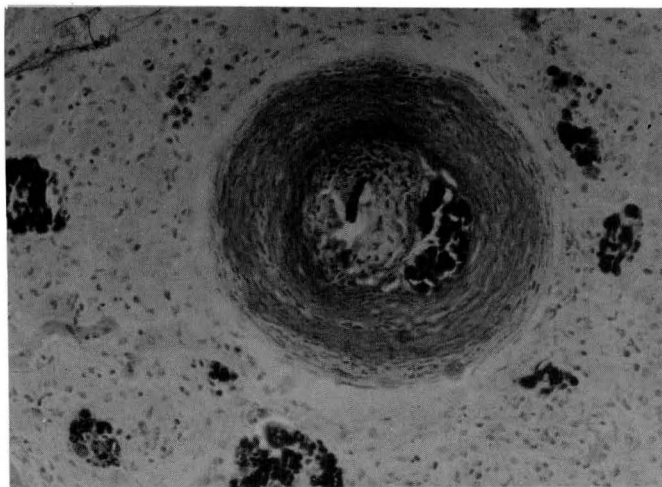
MATERIAL E MÉTODOS

Numa criação comercial de rãs da espécie *Rana castesbeiana*, conhecida vulgarmente por rã-touro (Bullfrog) localizada no Estado do Rio de Janeiro, foram adquiridas 60 novas rãs e colocadas juntas com um lote de 100 já existente. Cerca de 3 semanas após começou a ocorrer alta mortalidade de animais. Foi feita uma visita à propriedade para levantamento do histórico da doença e das condições higiênico-sanitárias do ranário. Na ocasião foram colhidas 22 rãs doentes ou recém-mortas para exames clínico, anátomo-histopatológico e bacteriológico. Fragmentos de órgãos lesados foram fixados em solução de formol a 10% e os cortes histológicos corados pelas técnicas de hematoxilina-eosina (HE), de Ziehl-Neelsen (ZN), de Fontana, de Perl e de Turnbull. Esfregaços dos órgãos lesados foram corados pelas técnicas de Gram e de Ziehl-Neelsen. O triturado dos órgãos foi semeado, diretamente, em meios simples e enriquecidos e, após descontaminação em solução a 6% de ácido sulfúrico, em meio de Loewenstein-Jensen, com e sem glicerina, bem como com e sem aeração. A incubação foi feita a 30 e 37°C, durante 30 dias e acompanhada por duas inspeções semanais. A identificação do agente etiológico baseou-se na morfologia e propriedades tintoriais do germe, nos aspectos culturais das colônias segundo a classificação de Runyon (1959) e nas propriedades bioquímicas das micobactérias isoladas. A caracterização bioquímica foi realizada pelas provas descritas por Langenegger et al. (1973).

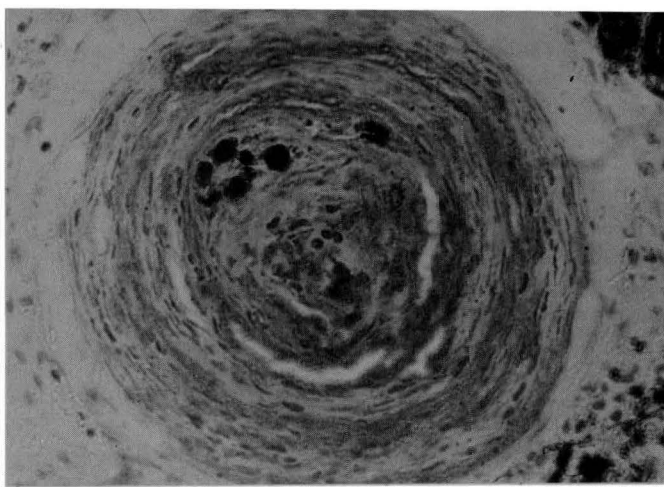
RESULTADOS

A doença incidiu em cerca de 50% do lote de 160 rãs adquiridas recentemente, manifestando-se por progressiva apatia, adinamia e redução do apetite dos animais e, conseqüentemente perda de peso ou retardamento do crescimento. Na fase final da doença, as rãs permaneciam paradas, cabisbaixas. A enfermidade evoluiu progressivamente para a morte. Após terem morrido cerca de 50% dos animais, o proprietário sacrificou o restante do lote.

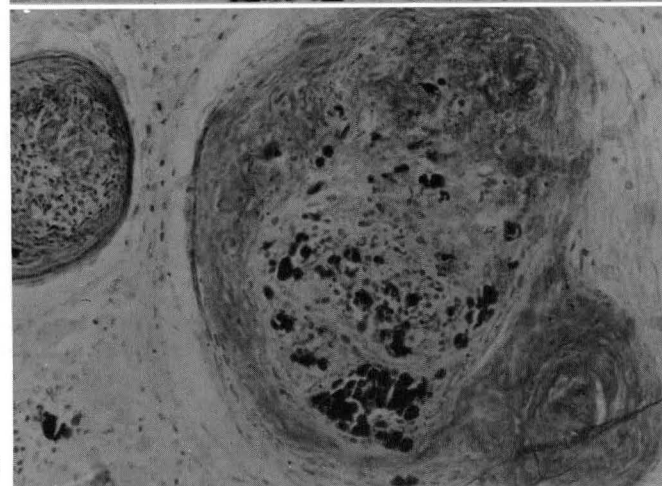
A necrópsia de 22 rãs que morreram vítimas da doença ou foram sacrificadas quando já doentes, revelou em todos os animais a presença de lesões nodulares caseosas de cor esbranquiçada no fígado, no baço e nos rins e mais raramente nos pulmões, variando o número e o tamanho destas. Os nódulos, cujo tamanho oscilava desde o de cabeça de alfinete até 4mm de diâmetro, encontravam-se difusamente disseminado nos rins, no baço e no fígado e sob as serosas do coração e dos pulmões. Nódulos maiores deformavam os órgãos e ao corte apresentavam um conteúdo caseoso bem delimitado do tecido normal por



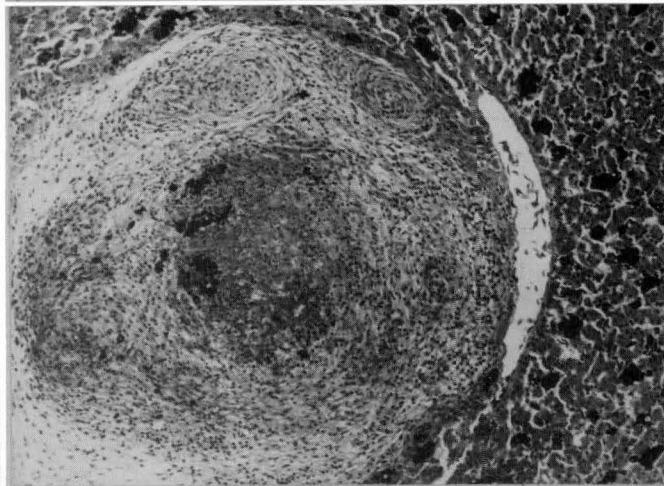
1



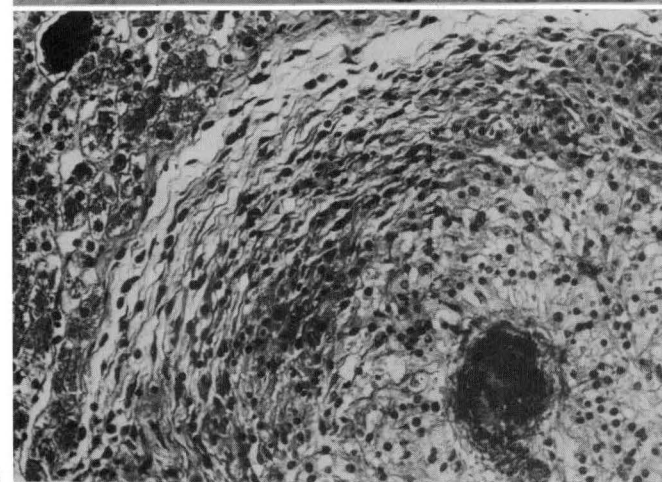
2



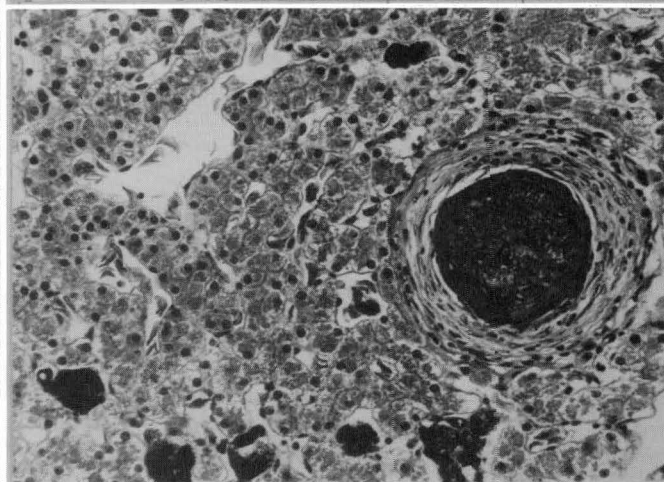
3



4



5



6

Fig. 1. Nódulos concêntricos no fígado de rã, *Rana catesbeiana*, revelando densas massas de *Mycobacterium marinum*, álcool-ácido resistentes. ZN, obj. 10

Fig. 3. Nódulos no fígado de rã de vários tamanhos e em coalescência, mostrando alta concentração de *M. marinum* nos granulomas. ZN, obj. 10.

Fig. 5. Tubérculo inicial formado por macrófagos epitelióides com citoplasma esponjoso no fígado de rã. HE, obj. 16.

Fig. 2. Nódulo no fígado de rã demonstrando aglomerados de *M. marinum* nos restos celulares centrais e entre as camadas concêntricas periféricas. ZN, obj. 20.

Fig. 4. Coalescência de varios tubérculos num grande nódulo bem delimitado pelo tecido hepático normal. HE, obj. 6.

Fig. 6. Granuloma com reação discreta contendo massa de restos celulares no fígado de rã. HE, obj. 16.

uma fina cápsula conjuntiva. O material caseoso não causava rangido ao corte e a bacterioscopia de esfregaço corados pelo método de Gram e Ziehl-Neelsen do material triturado revelou apenas a presença de bastonetes e cocobastonetes, álcool-ácido resistentes, intensamente corados pela fucsina.

Histologicamente, os nódulos revelaram-se como granulomas em vários estágios de desenvolvimento, que, portanto, diferiam morfológicamente entre si. Os tubérculos menores eram formados por aglomerados de macrófagos epitelióides com abundante citoplasma de aspecto esponjoso ou granular e bordos indistintos (Fig. 5). Estes acúmulos de macrófagos epitelióides eram envolvidos por finas lâminas concêntricas de fibrócitos e colágeno, que às vezes eram entremeados por raros linfócitos, plasmócitos e heterófilos. Outros granulomas apresentavam-se com massa de restos celulares, também arranjadas concêntricamente em lâminas, envolvida externamente por faixas de tecido conjuntivo, de espessura variável (Fig. 6). Estágios intermediários entre estas duas formas também eram vistos, nos quais a massa de detritos celulares era envolvida por um manto de macrófagos epitelióides, circundados por faixa de tecido conjuntivo. Mais raramente alguns granulomas maiores constituíam-se por simples massas caseosas amorfas, delimitadas por tecido conjuntivo. Calcificação distrófica foi raramente observada, porém os granulomas, com frequência, continham variáveis quantidades de melanina. Coalescência de granulomas ocorreu eventualmente (Fig. 3 e 4). Pela coloração de Ziehl-Neelsen encontravam-se no centro e entre as lâminas de restos celulares, grande número de bastonetes corados pela fucsina (Fig. 1 e 2).

As sementeiras do triturado dos órgãos lesados, diretamente, em meios para rotina de diagnóstico não revelaram crescimento de microrganismos em 24 e 48 horas. O mesmo triturado depois de descontaminado e semeado em meio de Loewenstein-Jensen, revelou crescimento de grande número de colônias visíveis, a partir do 7º dia de incubação a 30°C. Posteriormente também houve crescimento a 37°C. Repiques das culturas, quando incubadas no escuro, apresentavam-se acromáticas, no entanto, as mesmas tornavam-se pigmentadas de amarelo vivo à alaranjado quando expostas à luz, caracterizando-se assim como fotocromogênicas pertencentes ao grupo I de Runyon (1959).

A caracterização bioquímica das culturas isoladas revelou que as provas da catalase à temperatura ambiente e a 68°C foram positivas, não havendo redução do nitrato, mas sim desdobramento da uréia e lenta hidrólise do Tween 80. O Quadro 1 reúne os resultados das provas realizadas.

Quadro 1. Características culturais e bioquímicas do agente causal, *Mycobacterium marinum*, isolado das lesões granulomatosas de *Rana catesbeiana*

Crescimento	Fotocromogênicidade		Catalase		Nitrato redutase (4 horas)	Hidrólise de Tween 80 (10 dias)	Urease
	30°C	37°C	28°C	68°C			
Dias	30°C	37°C					
8	+	±	+	+	-	+	+

A soma dos resultados acima descritos permitiu identificar o agente causal como *Mycobacterium marinum* e a doença como micobacteriose da rã.

DISCUSSÃO

Analisando-se os resultados das pesquisas já feitas sobre a chamada "tuberculose" dos anfíbios, verifica-se, sob o ponto de vista anátomo-patológico, que ocorrem duas formas distintas de micobacterioses, a visceral e a cutânea. A infecção visceral se caracteriza por múltiplos granulomas, variando em número e em tamanho, disseminados no fígado, baço, nos rins, pulmões, mais raramente no peritônio, intestino, e nos testículos. Esta forma visceral foi assinalada na rã européia *Rana temporaria* (Küster 1905, Lichtenstein 1920), na rã *Pseudis paradoxis* (Griffith 1930), na rã *Leptodactylus pentadactylus* (Darzins 1950/52) e agora pelos autores na rã comercialmente explorada, *Rana catesbeiana*. A forma visceral também foi descrita em sapos da espécie *Xenopus laevis* e *Bufo bufo* (Elkan 1960, Reichenbach-Klinke & Elkan 1965).

A micobacteriose cutânea descrita em sapos da espécie *Xenopus laevis* (Schwabacher 1959, Reichenbach-Klinke & Elkan 1965) caracterizou-se pela formação de nódulos que se desenvolviam na pele, envolvendo inicialmente mais a porção superficial do derma e posteriormente também as camadas mais profundas. Estes nódulos tendiam a multiplicar-se cobrindo áreas adjacentes e ulceravam quando atingiam tamanhos maiores. Histologicamente consistiam de massas de células endotelióides, macrófagos, linfócitos e polimorfonucleares com pouco tecido colágeno, entremeado por numerosos amontoados de bastonetes álcool-ácido resistentes.

Analisando-se os achados macro e microscópicos do surto ora descrito em *Rana catesbeiana* estes caracterizam uma micobacteriose e assemelham-se bastante ao que tem sido relatado na literatura para esta doença em anfíbios.

A estrutura e a composição celular dos granulomas são praticamente as mesmas observadas por Darzins (1950/52) na epizootia de tuberculose em *Leptodactylus pentadactylus*. Reichenbach-Klinke & Elkan (1965) mencionam que a presença de células gigantes é muito rara nos granulomas e que a caseificação central é usualmente pouco pronunciada, o que foi por nós também constatado no presente surto. No entanto, Darzins (1950, 1952) e Reichenbach-Klinke & Elkan (1965) não se referem à presença de heterófilos nas lesões. Embora em pequeno número, estas células por vezes estavam presentes em meio aos granulomas no presente surto, o que também foi constatado por Schwabacher (1959) em lesões tuberculoides na pele de sapos *Xenopus laevis*, causadas por *M. xenopi*. Presença de melanina nas células dos túbulos contornados do rim tem sido descritas em casos de micobacteriose em sapos (Reichenbach-Klinke & Elkan 1965). A destruição de grandes áreas do parênquima hepático levaria à liberação da melanina, af armazenada, para a corrente sanguínea com subsequente eliminação pe-

los rins. Muitos dos animais por nós examinados portavam avançadas lesões hepáticas, mas não foi encontrado este pigmento nas células dos túbulos renais de nenhum dos animais.

A presença da melanina no parênquima hepático e nas lesões tuberculoides foi comprovada pela coloração de Fontana e sua liberação através da oxidação com peróxido de hidrogênio. As colorações de Perl e Turnbull revelaram pequena quantidade de hemossiderina que não tem significado patológico.

Quanto à etiologia, a forma da chamada "tuberculose" visceral é causada por *Mycobacterium fortuitum*. A nomenclatura do(s) agente(s) etiológico(s) da "tuberculose" dos anfíbios passou por várias propostas. Inicialmente a micobactéria isolada por Küster (1905) foi denominada, genericamente, por bacilo da tuberculose dos animais de sangue frio. Em 1923, ela foi designada por *M. ranae* no Manual de Bergey (1923). Cruz (1938), ao reestudar as micobactérias do grupo, demonstrou a identidade de *M. ranae* com *M. fortuitum*, prevalecendo então o nome desta e *M. ranae* ficou como sinônimo. Mais recentemente, Stanford & Gunthorpe (1969) reanalizando culturas de *M. ranae* e *M. giae* (1950/52) também concluíram que estas eram idênticas a *M. fortuitum*. Cultural e bioquimicamente, *M. fortuitum* se caracteriza pelo crescimento rápido, em 3 a 4 dias, por ser acromogênico, por reduzir nitrato e se enquadrar no grupo 4 de Runyon (1959).

O surto de micobacteriose visceral, descrito no presente trabalho, foi causado por *M. marinum* e parece ser o primeiro registro desta infecção em rãs. Esta micobactéria, no entanto, foi identificada como agente causal da tuberculose de peixes (Aronson 1926, Giavenni et al. 1980, Hoffmann et al. 1983). *M. marinum* se distingue cultural e bioquimicamente de *M. fortuitum* por ser de crescimento mais lento (7 a 8 dias), por ser fotocromogênico, por não reduzir nitrato, e pertencer ao grupo 1 de Runyon (1959).

A micobacteriose cutânea descrita em sapos da espécie *Xenopus laevis* (Schwabacher 1959, Reichenbach-Klinke & Elkan 1965) foi causada por *M. xenopi* que se distingue das duas espécies acima referidas por ser de crescimento lento (30 dias), por ser escotocromogênica, não reduz nitrato e se enquadra no grupo 3 de Runyon (1959).

A existência de outras micobactérias responsáveis por infecções espontâneas de anfíbios não pode ser excluída. Não foi possível consultar o trabalho original de Griffith (1930) e de outros autores citados por Vogel (1958) e por Reichenbach-Klinke & Elkan (1965). Elkan (1960) descreveu a micobacteriose de sapos em seus aspectos anátomo e histopatológico, mas não se referiu ao isolamento e identificação do agente causal.

Sob o ponto de vista epizootiológico, chamou a atenção que a ocorrência das micobacterioses em anfíbios foi assinalada em animais mantidos em cativeiro e o número de infecções nestes foi pequeno a julgar pelo relato de

Küster (1905) que de 200 rãs examinadas encontrou apenas 3 casos e Lichtenstein (1920) que observou apenas 1 dentro de 140.

Contrastando esta informação, Darzins (1950, 1952), em Salvador, na Bahia, deparou-se com verdadeira enzootia, pois das 60 rãs silvestres examinadas todas estavam infectadas.

No surto por nós descrito numa criação comercial, a infecção propagou-se no lote a partir da introdução de rãs oriundas de outro ranário. Este achado deve servir de alerta para o perigo que representa a aquisição e introdução de rãs de outras procedências. Precauções também devem ser tomadas para evitar a entrada de rãs silvestres nas criações comerciais, bem como para a origem da água a ser utilizada no ranário, pois esta pode vir contaminada por *M. fortuitum* e *M. marinum*.

Finalmente, sob o ponto de vista da saúde pública, cumpre assinalar que os dois agentes acima mencionados podem aproveitar-se de soluções de continuidade da pele ou da mucosa do homem e causar infecções ulcerativas de evolução crônica e de tratamento renitente.

Agradecimentos.- Os autores agradecem ao Prof. Dr. José Felipe Ribeiro Amato pelo interesse demonstrado em ver esclarecida a causa da doença das rãs, bem como pela sua prestima colaboração na confecção de cortes histológicos e de microfotografias em côres.

REFERÊNCIAS

- Aronson J.D. 1926. Spontaneous tuberculosis in salt water fish. J. Infect. Dis. 39:315-320.
- Bataillon E., Dubard P. & Terre L. 1897. Un nouveau type de tuberculose. Compt. Rend. Soc. Biol. 49:446-449.
- Bergey D.H., Harrison F.C., Breed R.S., Hammer B.W. & Huntoon F.M. 1923. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Williams & Wilkins, Baltimore, p. 375-376.
- Cruz J.C. 1938. *Mycobacterium fortuitum* um novo bacilo ácido resistente patogênico para o homem. Acta Med., Rio de J., 1:297-301.
- Darzins E. 1950. Tuberculose das Gias. Archs Inst. Bras. Invest. Tubercul. 9:29-37.
- Darzins E. 1952. The epizootic of tuberculosis among the Gias in Bahia. Acta Tuberc. Scand. 26:170-174, and 3 figures.
- Elkan E. 1960. Some interesting pathological cases in amphibians. Proc. Zoot. Soc., London, 134:275-295.
- Friedmann F.F. 1903. Spontane Lungentuberkulose mit grosser Kaverne bei einer Wasserschildkroete (*Chelone corticata*). Dtsch. Med. Wschr. 29:25-29.
- Giavenni R., Finazzi M., Poli G. & Grimaldi E. 1980. Tuberculosis in marine tropical fishes in an aquarium. Wildlife Dis. 16(2):161-168.
- Griffith A.S. 1930. Tuberculosis in cold-blooded animals, p. 326-332. In: A System of Bacteriology. Med. Res. Council, London. (Citado por Vogel 1958)
- Hoffmann R., Graaff S., Burg G. 1983. Verbreitung der Tuberculose bei Zierfischen. Tierärztl. Praxis 11:261-267.
- Küster E. 1905. Über Kaltblütertuberkulose. Münch. Med. Wschr. 52:57-59.
- Langenegger C.H., Menke L.G. & Langenegger J. 1973. Micobactérias isoladas de lesões tuberculoides de linfonodos cervicais de suínos no Paraná. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet. 8:53-59.
- Lichtenstein S. 1920. Ein Fall von spontaner Froschtuberkulose. Centralbl. Bakt. Parasitol., 1 Abt. Orig., 85:249-252.
- Reichenbach-Klinke H. & Elkan E. 1965. The principal diseases of lower vertebrates. Book II, Diseases of Amphibians. T.F.H. Publications.

- Runyon E.H. 1959. Anonymous mycobacteria in pulmonary disease. *Med. Clin. North Amer.* 43:273-290.
- Rupprecht J. 1904. Über säurefeste Bazillen nebst Beschreibung eines Falles von spontaner Froschtuberkulose. Inaug. Diss., Freiburg. (Citado por Küster 1905)
- Schwabacher H. 1959. A strain of mycobacterium isolated from skin lesions of a cold-blooded animal, *Xenopus laevis*, and its relation to atypical acid-fast bacilli occurring in man. *J. Hyg.* 57:57-67.
- Stanford J.L. & Gunthorpe W.J. 1969. Sorological and bacteriological investigation of *Mycobacterium ranae* (*fortuitum*). *J. Bacteriol.* 98:375-383.
- Vogel H. 1958. Mycobacteria from cold-blooded animals. *Am. Rev. Tuberc.* 77:823-838.