

ISSN 0100-736X

Volume 7 Número 1

Jan/Mar 1987

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Brazilian Journal of Veterinary Research



Revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

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

Editorial Policy

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

Corpo Editorial (Editorial Board)

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

Assessoria Científica (Advisory Board)

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

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

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

Figura da capa: A substituição da pastagem nativa do cerrado da Região Centro-Oeste do Brasil, cujo solo é carente em fósforo, por pastagens cultivadas formadas por gramináceas pouco exigentes (p. ex. *Brachiaria decumbens*) e a introdução de bovinos selecionados para rápido desenvolvimento ponderal, desencadearam o aparecimento do botulismo na região a partir de 1977, mais intensamente no sul do Estado de Goiás - Fotografia tirada no município de Nerópolis, por J. Döbereiner. (Souza & Langenegger, p. 17)

Cover illustration: The substitution of natural Cerrado (savanna) vegetation in central-western Brazil, on phosphorus deficient soils, by cultivated pastures with undemanding grasses (e.g. *Brachiaria decumbens*), and the introduction of fast growing cattle breeds, led to severe outbreaks of Botulism from 1977, especially in southern Goiás - Photograph taken in the county of Nerópolis by J. Döbereiner. (Souza & Langenegger, p. 17)

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

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

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

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

v. trim. ISSN 0100-736X

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

CDD 636.089

CDU 619:616(81)(05)

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

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

uma revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

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

Volume 7

Janeiro/Março 1987

Número 1

SUMÁRIO

Solanum fastigiatum var. fastigiatum and Solanum sp. poisoning in cattle: ultrastructural changes in the cerebellum. [Intoxicação em bovinos por Solanum fastigiatum var. fastigiatum e Solanum sp.: alterações ultraestruturais no cerebelo.] S.S. Barros, F. Riet-Correa, M.B. Andujar, C.S.L. Barros, M.D.C. Méndez & A.L. Schild . .	1-5
Micobactérias atípicas isoladas de nódulos da esofagostomose bovina. P.M.P.C. Mota, J. Langenegger & C.H. Langenegger	7-10
Intoxicação experimental por Mascagnia rigida (Malpighiaceae) em coelhos. C.H. Tokarnia, J. Döbereiner & C.F.C. Canella	11-16
Esporos de Clostridium botulinum em torno de cadáveres decompostos de bovinos em pastagens no sul de Goiás. A.M. Souza & J. Langenegger	17-22
Isolamento de Campylobacter sp. de bezerros com e sem diarreia. J.R. Modolo, W. Bisping & K. Kirpal	23-25
Resumos 1-10	v-vi
Tópico: Botulismo epizootico em bovinos	vii-viii

CONTENTS

Solanum fastigiatum var. fastigiatum and Solanum sp. poisoning in cattle: ultrastructural changes in the cerebellum. S.S. Barros, F. Riet-Correa, M.B. Andujar, C.S.L. Barros, M.D.C. Méndez & A.L. Schild	1-5
Atypical mycobacteria isolated from intestinal lesions of Bovine Oesophagostomosis. P.M.P.C. Mota, J. Langenegger & C.H. Langenegger	7-10
Experimental poisoning by Mascagnia rigida (Malpighiaceae) in rabbits. C.H. Tokarnia, J. Döbereiner & C.F.C. Canella	11-16
Clostridium botulinum spores around decomposed cadavers of bovine victims of botulism in pastures of southern Goiás, Brazil. A.M. Souza & J. Langenegger	17-22
Isolation of Campylobacter sp. in calves with and without diarrhea. J.R. Modolo, W. Bisping & K. Kirpal	23-25

ISSN 0100-736X

Pesq. Vet. Bras., Rio de Janeiro, v.7, n.1, p. 1-25, jan./mar. 1987

EDITORIAL

A publicação da PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA já é uma realidade, reconhecida no País e no exterior, graças aos colegas que com ela colaboram, ou como autores das contribuições científicas ou como assinantes e leitores. Cada um dos colaboradores está ciente que faz parte na importante geração de comunicação técnico-científica dentro da nossa área de conhecimentos. Múltiplas são as possibilidades de incrementar esta colaboração, tornando a edição da revista realmente eficaz, dentro do cronograma estabelecido.

Os *autores*, em submeter os seus originais datilografados, devem sempre deixar-se guiar pela apresentação dos trabalhos nos últimos números da revista para que se poupe tempo na preparação do material para a composição gráfica. As correções e sugestões introduzidas pela Assessoria Científica tem a finalidade de melhorar os trabalhos e os autores devem entender o sentido positivo deste procedimento editorial. Mas convém lembrar que os autores têm a primazia sobre a expressão do seu pensamento e a última responsabilidade pelo trabalho escrito.

Os *assinantes* e leitores são imprescindíveis à vida da revista e dão a razão para a sua triagem crescente. Eles devem permanecer ativos na manutenção dos contatos estabelecidos com a revista, a fim de facilitar o recebimento de todos os números publicados.

JÜRGEN DÖBEREINER
Editor

1º Congresso Brasileiro de Zoonoses, Rio de Janeiro, 26 a 30.4.1987

(Coordenação: Associação Brasileira de Especialistas em Zoonoses, SCS - Ed. Ceará, 14º andar, Brasília, DF 70303; fone 226-7708, Telex 061-2281)

III Congresso Brasileiro de Veterinários Especialistas em Suínos, Gramado, Rio Grande do Sul, 19 a 23.10.1987

(Informações: ABREVES Nacional, Esc. Vet. Univ. Fed. Minas Gerais, Cx. Postal 567, Belo Horizonte, MG 3000)

39ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, Brasília, 12 a 18.7.1987

(Secretaria Geral: Av. Pedrosa de Moraes, 1512, São Paulo, SP 05420)

1º Congress of Toxicology in Developing Countries, Buenos Aires, November 16-21, 1987

(Information: Dr. José A. Castro, Centro de Investigaciones Toxicologicas, Zufriategui 4380, Villa Martelli, Pcia Buenos Aires, Argentina; tel. 761.0031/0531 ext. 239)

I Congresso Brasileiro do Leite e Derivados, São Paulo, 11 a 15.5.1987

(Informação: Rua Morás 696, Alto de Pinheiros, São Paulo, SP 05434; fone (011)210-4744)

IV Congresso Internacional de Veterinária de Língua Portuguesa,

V Semana de Medicina Veterinária, São Paulo, 7 a 11.9.1987

(Informações: Fac. Med. Veterinária e Zootecnia, USP, Av. Prof. Lucio Martins Rodrigues 399, Travessa 4/519, São Paulo, SP 05508; fone (011)211-3074, (011)210-2122, Ramais 464, 465, 467 e 468)

VII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Belo Horizonte, 20 a 24.7.1987

(Secretaria Executiva: Congress Ltda., Rua Marechal Deodoro 318, Belo Horizonte, MG 30150)

XXIII Congresso Mundial de Veterinária, Montreal, Canadá, 16 a 21.8.1987

(Secretaria Geral: P.O. Box 120, Succursale B, Montreal H38 3J5, Quebec, Canadá)

II Congresso Brasileiro de Veterinários Especialistas em Suínos, Gramado, Rio Grande do Sul, 15 a 18.9.1987

(Informações: Rua Pinheiro Machado 170, Casca, RS 99260; fone (054)347-1369)

12º Congresso da Associação Mundial para o Avanço da Parasitologia Veterinária, Quebec, Canadá, 12 a 15.8.1987

(Informações: Dr. Roger Prichard, MacGill University, 21111 Lakeshore Rd., Ste. Anne de Bellevue, Quebec, Canadá)

I Congresso Baiano de Medicina Veterinária, Salvador, 2 a 6.11.1987

(Informações: Dr. Filemon Paranaguá, Av. Adhemar de Barros 500, Ondina, Salvador, BA 40000)

X Congresso Brasileiro de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais, São Paulo, 29.8 a 4.9.1987

(Secretaria Executiva: Rua Nebraska 806, São Paulo, SP 04560; fone (011)542-7033)

REVISTAS INCLUÍDAS NA PREPARAÇÃO DE RESUMOS
PARA PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

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

RESUMOS

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

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

DOENÇAS INFECCIOSAS

1. Marques L.C., Bechara G.H., Marques J.A., Alessi A.C., Tomaz B.V. & Guerra L. 1986. **Surtos de febre catarral maligna em bovinos no Estado de São Paulo.** [Outbreaks of malignant catarrhal fever in cattle in the State of São Paulo, Brazil.] *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 38(5):719-729. Depto Pat. Vet., Fac. Ciênc. Agrárias e Veterinárias, Unesp, Jaboticabal, SP 14870.

Descrevem-se três surtos de febre catarral maligna em bovinos de três propriedades rurais localizadas em diferentes municípios do Estado de São Paulo, durante o primeiro semestre de 1983. Em Santa Fé do Sul adoeceram 17 bovinos em um lote de 80 animais; em Olímpia ocorreram três casos de um total de 40 bovinos e em Bebedouro, quatro de um total de 35. Os sinais clínicos foram comuns aos animais acometidos das três propriedades e incluíam: apatia, anorexia, agalactia, lacrimejamento bilateral, salivação espumosa, corrimento nasal bilateral mucopurulento abundante, opacidade de córneas, cegueira, febre atingindo 41,5°C, congestão vascular e edema de pálpebras, linfonodos aumentados de volume, lesões erosivas nas mucosas oral e nasal e hematúria. Todos os animais morreram entre um e 14 dias após o início destes sinais. A necropsia de quatro animais provenientes das três propriedades revelou rinite e estomatite pseudo-membranosas, linfonodos aumentados de volume e avermelhados, hemorragias no epicárdio, endocárdio e parede da bexiga, fígado aumentado de volume e com coloração amarelada irregular, rins com coloração esbranquiçada irregular. O diagnóstico pode ser confirmado pelo exame histopatológico onde se observou, entre outras lesões, vasculite necrótica com infiltrado de células mononucleares na adventícia, em vários órgãos. Em um caso foi observada tireoidite focal crônica com extrema congestão, descamação e hiperplasia de células foliculares.

2. Prado J.A.P., Reckziegel P.E. & Darsie G.C. 1986. **Avaliação dos níveis de lactato desidrogenase (LDH) em relação a infecciosidade e antigenicidade de uma amostra de vírus de febre aftosa em cultivo celular.** [Relationship between lactate dehydrogenase (LDH) levels and antigenicity/infectivity of a Foot-and-Mouth virus sample in cellular culture.] *Bolm Inst. Pesq. Vet. Desidério Finamor, Porto Alegre*, 9:35-42. Lab. Diagnóstico, Produção de Vacinas contra a Febre Aftosa, IPVDF, C.P. 2076, Porto Alegre, RS 90000.

Uma amostra de vírus de febre aftosa, tipo A (A Venceslau), foi cultivada em célula BHK, clone 13 adaptada a suspensão em sistema "roller" semi-industrial. Durante o período de replicação da amostra foi avaliada a eficiência do teste de LDH quanto a produção de vírus na cultura em relação aos testes normalmente usados para este fim (título infeccioso e fixação do complemento). Os resultados obtidos através de uma curva de replicação com a amostra de vírus estudada sugerem a possibilidade do uso deste teste enzimático não só na determinação do ponto ótimo da coleta das suspensões como também de sua aplicação na seleção de amostras de vírus destinadas a produção de vacinas.

3. Cunha R.G., Passos W.S., Pagano M.C.C. & Souza D.M. 1986. **Surto de gripe eqüina produzido por vírus de influen-**

za A/equi 2 no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. [Equine influenza outbreak in Rio de Janeiro (Brazil) caused by A/equi 2 subtype of virus.] *Revta Bras. Med. Vet.* 8(3):88-91. Depto Pat. Clin. Veterinária, Univ. Fed. Fluminense, Rua Vital Brasil Filho 64, Niterói, RJ 24230.

Um surto de doença respiratória em cavalos, diagnosticada clinicamente como gripe eqüina, foi registrada no município do Rio de Janeiro, em julho de 1985. Foi coletada mucosidade nasal de seis animais para isolar e identificar o vírus atuante. Através de inoculação em ovos embrionados, um material mostrou-se infeccioso, produzindo líquidos alantóides estéreis, com a propriedade de aglutinar hemácias de galinha e ser propagado em série. O agente infeccioso não perdeu sua capacidade de replicação quando filtrado em membrana Millipore, com porosidade de 220 nanômetros. Cinco materiais deram resultados negativos. Com vistas a subtipificação do vírus atuante pela prova de inibição de hemoaglutinação, soros imunes foram preparados em galos com a cepa recém-isolada (RJ/85), bem como com cepas anteriormente estudadas (A/equi 2/GB/69 e A/equi 1/RJ/76). Igualmente foi utilizado o soro padrão A/equi 2/Miami/63, fornecido pelo C.D.C. - Atlanta, U.S.A. O imune soro homólogo, bem como os imunes soros A/equi 2/GB/69 e A/equi 2/Miami/63 inibiram a capacidade hemoaglutinante da cepa recém-isolada. Resultados similares foram obtidos com esses soros frente à cepa A/equi 2/GB/69. O soro imune A/equi 1/RJ/76 mostrou um alto título de inibição para si mesmo e resultados negativos para as cepas RJ/85 e A/equi 2/GB/69. Os resultados registrados indicam que a cepa de vírus, isolada em julho de 1985, do surto de gripe eqüina no município do Rio de Janeiro, pertence ao subtipo A/equi 2.

4. Fagliari J.J., Oliveira J.A., Lucas A. & Ferreira Neto J.M. 1986. **Quadro sero-protéico de bezerros submetidos a três sistemas de imunização contra paratifo.** [Sero-protein levels in calves submitted to three immunization systems against paratyphus.] *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 38(5):665-683. Univ. Estadual Paulista, Av. Brasil Centro 56, Município de Pereira Barreto, C.P. 31, Ilha Solteira, SP 15378.

Estudou-se o quadro sero-protéico de bezerros recém-nascidos submetidos a três sistemas de imunização ativa contra paratifo, através de análises da proteína total e das frações albumina, alfa globulina e gama globulina. Examinaram-se amostras séricas de 24 animais, distribuídos em quatro grupos de seis. Os testes séricos destes elementos foram relacionados com o estado de sanidade dos bezerros. Dentre as observações verificadas destacam-se: 1. a gama globulina foi a fração protéica responsável pelas variações dos níveis séricos de proteína total; 2. os níveis séricos de albumina, alfa globulina e beta globulina não foram influenciados pelos sistemas de imunização adotados; 3. Os grupos de animais submetidos à imunização, quando comparados ao grupo testemunha, apresentaram melhor performance para a gama globulina, especialmente os tratamentos III e IV; 4. o sistema de imunização recomendado é o prescrito no tratamento III, que consiste na aplicação de duas doses de vacina, aos 15 e 30 dias de idade; 5. não foram observadas alterações clínicas graves em nenhum animal, ficando os transtornos fisiológicos e alguns bezerros, limitados a simples casos de diarreia e anemia.

DOENÇAS PARASITÁRIAS

5. Santos I.C.S., Laranja R.J., Martins J.R. & Ceresér V.H. 1986. **Hospedeiro intermediário do Paramphistomum (Fischöder, 1901), Biomphalaria tenagophila (Orbigny, 1835), Guaíba, RS, Brasil.** [Intermediate host of Paramphistomum (Fischöder, 1901), Biomphalaria tenagophila (Orbigny, 1935), Guaíba, RS, Brazil.] *Bolm Inst. Pesq. Vet. Desidério Finamor, Porto Alegre*, 9:19-25. Inst. Pesq. Vet. Desidério Finamor, C.P. 2076, Porto Alegre, RS 90000.

Diagnosticaram-se, através da técnica de Dennis et al. (1954) modificada e necropsia, infecção por *Paramphistomum* (Fischöder, 1901) em bovinos nascidos e criados na fazenda Flor do Conde, Guaíba, Rio Grande do Sul. Assinalou-se *in locum*, pela primeira vez no Brasil, a ocorrência do caramujo *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny, 1835), como provável hospedeiro intermediário deste trematódeo parafistomídeo em condições naturais.

6. Honer M.R., Bianchin I. & Nascimento Y.A. 1986. **Avaliação do tratamento de bovinos de corte nelorados, criados em condições extensivas, por meio de sal medicado com fenbendazole.** [Evaluation of the treatment of beef cattle for gastrointestinal nematodes under extensive conditions, by means of salt medicated with fenbendazole.] *Pesq. Agropec. Bras.* 21(6):661-664. Centro Nac. Pesq. Gado de Corte, Embrapa, C.P. 154, Campo Grande, MS 79100.

Em três experimentos, foi oferecido sal medicado com fenbendazole para bovinos de corte nelorados, criados em condições extensivas. No primeiro experimento, onde os animais provavelmente tinham acesso à fonte de sal natural, o consumo do produto foi inadequado. Nos outros experimentos, embora houvesse um declínio no consumo do produto medicado, em relação ao consumo de sal comum medido anteriormente, todo produto foi consumido dentro dos limites estabelecidos pelo fabricante (em 72 e 52 horas, respectivamente). No segundo experimento todos os 42 animais foram negativos em termos de ovos por grama de fezes (OPG) e larvacultura. No terceiro experimento, 22 de 400 animais (5,6%) permaneceram positivos após tratamento; a redução geral no OPG foi de 91,11%. Algumas conseqüências destes resultados para o uso do sal medicado em condições extensivas são discutidas.

PATOLOGIA, CLÍNICA E CIRURGIA

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

Foi feito um levantamento das deficiências minerais em bovinos, de seis regiões localizadas a nordeste do Território Federal de Roraima. Foram amostrados solos, plantas forrageiras e tecido animal (fígado), nas estações seca e chuvosa. Foi encontrada deficiência de Zn nas forrageiras, em todas as regiões estudadas. Os níveis de Zn no fígado dos animais foram baixos em todas as regiões; estas deficiências eram mais pronunciadas no período chuvoso (79 ppm em animais adultos e 76 ppm em jovens). Os níveis de Co nos solos em cinco regiões foram 0,32, 0,25, 0,24, 0,18 e 0,12 ppm, e em uma, 0,06 ppm. Nas forrageiras, o nível de Co foi adequado em apenas uma região, mas no tecido hepático dos animais as concentrações de Co foram normais em toda as regiões. O Co foi deficiente em quatro espécies, e

adequado às exigências nutricionais dos bovinos em outras quatro, de um total de oito espécies amostradas.

8. Praga M.M., Castilhos L.M.L. & Santos M.N. 1985. **Biópsia hepática em bovinos: proposta de nova técnica.** [Liver needle biopsy in bovines: Proposal of a new technique.] *Revta Centro Ciênc. Rurais UFSM, Sta Maria*, 15(1):79-88. Depto Patologia e Clínica Médica Veterinária, Univ. Fed. Fluminense, R. Vital Brasil Filho 64, Niterói, RJ 24230.

Em dez bovinos foi realizada punção biópsia por acesso percutâneo e transtorácico, utilizando-se agulha de Menghini, agulha hipodérmica 20x40 e seringa de vidro contendo 10 ml de soro fisiológico. O ponto de eleição para a punção foi o cruzamento entre uma linha imaginária que parte de teberosidade externa do íleo em sentido craneal e paralelo à coluna com o 11º espaço intercostal. A técnica foi aplicada sem o uso prévio de sedação ou infiltração local de anestésico, comportando-se, os animais, de maneira satisfatória. As amostras pesavam em média uma grama e não mostravam sinal aparente de sangue. Esta quantidade foi suficiente para o estudo histológico. Em todos os animais colheram-se sangue e urina antes, 6 e 12 após a biópsia, para avaliação de alterações da função hepática, através das enzimas transaminase glutâmico-oxalacética, fosfatase alcalina e do urobilinogênio, constatando-se que o fígado não sofreu alteração da função.

9. Schocken-Iturrino R.P., Ávila F.A., Pinese J.E. & Yokaya F. 1985 **An outbreak of type C botulism in broiler chickens in São Paulo State, Brazil.** [Surto de botulismo C em frangos no Estado de São Paulo, Brasil.] *Revta Microbiol., S. Paulo*, 16(1):31-35. Depto Microbiologia, Fac. Ciênc. Agrárias e Veterinárias, Unesp, Jaboticabal, SP 14870.

Um surto por botulismo tipo C acometeu 12.000 frangos de sete semanas de idade no Estado de São Paulo. A fonte direta de toxina não foi detectada. Toxina de *Clostridium botulinum* tipo C foi demonstrada no soro de aves vivas e nos extratos do conteúdo do "papo", moela e intestinos de aves com sintomas de botulismo. Estes extratos provocaram toxemia letal para camundongos em 12 horas. A toxina foi especificamente neutralizada pela antitoxina de *C. botulinum* tipo C e inativada pelo aquecimento de 100°C por 10 minutos. Depois da retirada das carcaças e a desinfecção dos galpões não ocorreram mais mortes. Toxina botulínica tipo C é considerada como principal suspeita das mortes.

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

Três preparações à base de warfarina 3-(alfa acetoni-bencil)-4-hidroxicumarina foram testadas no combate ao morcego hematófago *Desmodus rotundus*, através da aplicação por via IM em bovino. O Vampirinip III apresentou melhor rendimento dentre as três, seguido da Waq e da Wol. A aplicação de warfarina via IM em bovino se mostrou um método viável dentro das condições deste estudo, constituindo-se em mais uma arma aplicável ao controle a nível populacional do *D. rotundus*.

BOTULISMO EPIZOÓTICO EM BOVINOS

Definição

O botulismo é uma doença específica, não febril, caracterizada por paralisia parcial ou completa dos músculos de locomoção, mastigação e deglutição. É uma intoxicação, e não uma infecção. Em bovinos, no Brasil, resulta principalmente da ingestão de ossos e restos de cadáveres em decomposição, impregnados pela toxina de *Clostridium botulinum*.

Etiologia

Clostridium botulinum é um bacilo aneróbio. Sob a forma de esporo é encontrado em toda a parte, no solo e na água, no mundo inteiro, variando, no entanto, a concentração e a distribuição dos tipos toxigênicos. Atualmente são conhecidos 7 tipos de *Cl. botulinum* que são A, B, C (com subtipos C-alfa e C-beta), D, E, F e G, que se diferenciam pela especificidade sorológica de suas toxinas. Em bovinos somente o subtipo C-beta e o tipo D são envolvidos no botulismo.

Condições em que ocorre

A principal condição para que o botulismo ocorra nos bovinos do Brasil é a deficiência de fósforo nesses animais em decorrência do baixo teor desse elemento no solo e conseqüentemente na pastagem. Uma das manifestações mais características dessa deficiência do bovino é a osteofagia, o hábito de roer ossos de cadáveres. Esta circunstância expõe o animal ao botulismo, pois em qualquer cadáver em decomposição pode desenvolver-se a forma vegetativa de *Cl. botulinum* com produção de toxinas.

Epizootiologia

Sabe-se que o esporo passa inofensivamente através do tubo digestivo dos animais vivos; com a morte do animal, porém, a flora bacteriana aeróbia, consumindo o oxigênio do trato digestivo, cria condições de anaerobiose para o desenvolvimento de *Cl. botulinum*, cujas formas vegetativas invadem os tecidos em decomposição e produzem a toxina letífera.

Um caso esporádico de animal morto e não enterrado, em região com acentuada deficiência de fósforo é o ponto de partida para, pela osteofagia, haver uma disseminação lenta do botulismo para áreas cada vez mais amplas. Eis o que acontece: outro animal, ao roer os ossos desse cadáver, ingere a toxina botulínica e ao mesmo tempo também esporos do germe. Ao morrer, em local mais ou menos distante, torna-se nova fonte de intoxicação e deixa no solo, onde a carcaça se decompôs, um novo local rico em esporos. Por sua vez, as plantas que nasceram nesses locais facilmente carregam *Cl. botulinum* que sendo ingerido por outros animais, será eliminado com as fezes, em outros pontos, intensificando-se a contaminação do solo pelos esporos. Isso favorece o aparecimento de novos casos acidentais de cadáveres nos quais *Cl. botulinum* vem a se desenvolver.

Além desta circunstância, animais silvestres, como urubus, carnívoros e tartarugas, contribuem para a disseminação dos esporos. Em recente pesquisa foi demonstrado que o cerrado do Brasil-Central constitui-se hoje numa área epizootica de botulismo do bovino, prevalecendo nos achados de exames de solo os esporos de *Clostridium botulinum* dos tipos C, D e do complexo

CD em 75,98%, seguido do tipo A em 21,57% e em pequeno percentual os tipos B e G.

Período de incubação

O período de incubação, em casos experimentais, tem variado de 18 horas a 16 dias, dependendo da quantidade de toxina dada e do método de administração; em casos naturais deve ocorrer o mesmo.

Evolução

A duração da doença varia diretamente com a duração do período de incubação. Se o intervalo entre a ingestão da toxina e o aparecimento dos primeiros sintomas é curto, a duração da doença é geralmente curta e o caso é fatal. Se os sintomas levam mais tempo a aparecer, o curso da doença é mais longo. Pode haver recuperação nos casos de mais longa evolução.

A evolução pode assumir a forma superaguda, isto é, levar menos de 24 horas, sendo o animal geralmente encontrado já morto no campo, a aguda (1 a 2 dias), a subaguda (3 a 7 dias) ou a crônica (mais de 7 dias, até 1 mês).

Patogenia

Apesar de imunologicamente distintas, as toxinas têm ação idêntica. Elas não atuam no sistema nervoso central, mas sim no sistema nervoso periférico, na junção neuro-muscular. Seu efeito paralisante é aparentemente devido ao impedimento da liberação da acetilcolina, substância envolvida na transmissão dos impulsos nervosos. A maneira pela qual se dá o bloqueio não é conhecido.

Sintomas

O sintoma mais importante é a paralisia dos músculos de locomoção, mastigação e deglutição. Inicialmente o animal tem andar duro, desajeitado, tendência acentuada de se deitar e dificuldade em se levantar, até o ponto de não poder erguer-se do chão, ficando deitado em decúbito esterno-abdominal. Mais adiante o animal não consegue manter a cabeça na posição normal e a descansa no flanco ou apoia o queixo no chão. Finalmente o animal fica caído de lado, até morrer. Há animais que morrem em decúbito esterno-abdominal. A paralisia dos músculos da mastigação e deglutição acompanha as outras manifestações em grau variável; isto é indicado inicialmente por dificuldades na apreensão dos alimentos e lentidão na mastigação, e finalmente pela incapacidade do animal de apreender, mastigar e engolir os alimentos. Nas fases mais adiantadas da doença pode ocorrer a exteriorização espontânea da ponta da língua, mas a paralisia da língua pode ser demonstrada pelo veterinário através da exteriorização forçada. Nesta condição o animal com botulismo não consegue, ou com muita dificuldade, recolher a língua à cavidade bucal. O psiquismo do animal permanece normal na fase inicial da doença, como também a sensibilidade da pele e os reflexos dos olhos. Não há febre. Às vezes há prisão de ventre, excepcionalmente diarreia.

Achados de necropsia

Não são encontradas, à necropsia, lesões que possam ser consideradas características para o botulismo. Realmente, um fato

que chama atenção, é a ausência de lesões. Porém, corpos estranhos, principalmente fragmentos de ossos, podem ser encontrados no rúmen e retículo, devido à osteofagia. Podem ser encontradas inflamação catarral e pequenas hemorragias na mucosa do trato digestivo, particularmente do intestino. Às vezes são vistas pequenas hemorragias no epi- e endocárdio.

Alterações histopatológicas

Nos exames histopatológicos é observada, freqüentemente, em casos subagudos e crônicos, degeneração gorda de músculos.

Diagnóstico

O diagnóstico deve basear-se principalmente no histórico da doença e nos sintomas. Quando bovinos, criados em regiões deficientes em fósforo e com manifestações de osteofagia, apresentaram perturbações na locomoção, mastigação e deglutição, deve-se suspeitar de botulismo.

A comprovação laboratorial do diagnóstico de botulismo é feita pela demonstração da presença da toxina diretamente no conteúdo gastrointestinal, no fígado ou no soro sanguíneo, através do experimento em camundongo e testes de soro-proteção ou soro-neutralização para a tipagem da toxina. Esta demonstração da toxina é problemática, a não ser em casos superagudos, pois no bovino, que é muito sensível, é difícil encontrar quantidades suficientes de toxina para reprodução experimental da doença no camundongo.

Como é difícil conseguir concentração suficiente de toxina destes materiais, lança-se mão da alternativa do diagnóstico indireto, que consiste em cultivar conteúdo do rúmen ou restos do cadáver já decomposto, e também do solo do local, para demonstrar a presença de esporos. Este diagnóstico tem valor relativo quando é feito em casos individuais, pois, teoricamente, pode haver esporos de *Cl. botulinum* no conteúdo gastrointestinal de qualquer bovino; no entanto, quando o exame bacteriológico é realizado em maior número de cadáveres da mesma fazenda ou região, como acontece em surtos epizooticos, serve para confirmar o diagnóstico clínico.

Diagnósticos diferenciais

Os diagnósticos diferenciais mais importantes no Brasil referem-se à raiva e à intoxicação por planta.

No diagnóstico diferencial referente à raiva devem ser levadas em consideração as seguintes divergências: o botulismo epizootico incide mais freqüentemente no período das chuvas, no auge do ciclo vegetativo das plantas forrageiras, ao passo que a raiva ocorre durante todo o ano, com evolução de aproximadamente 5 dias; no botulismo a evolução da doença varia de poucas horas a até 1 mês; o botulismo epizootico afeta por ordem de freqüência, as vacas em lactação, vacas em gestação, novilhas e bois de corte, quando em fase de crescimento rápido, e sempre mais nos animais mais velhos, porque a osteofagia é um hábito adquirido que se vai desenvolvendo à medida que aumenta a idade do animal (bezerros não adoecem de botulismo, pois não roem ossos) – enquanto a raiva afeta indistintamente os animais de qualquer categoria ou idade; a raiva afeta também os eqüinos, porém o botulismo epizootico, não. Em caso de dúvida deve-se submeter material para o diagnóstico laboratorial de raiva (fragmentos do sistema nervoso central, sobretudo cerebelo e corno de Ammon em líquido de Bedson ou Vallée e em formol a 10%).

Em surtos de botulismo epizootico suspeita-se às vezes de intoxicação por planta. As plantas tóxicas conhecidas no Brasil que afetam o sistema nervoso central causam sintomas diferentes.

Tratamento

Não se conhece tratamento medicamentoso para o botulismo. O uso da antitoxina tem revelado pouco sucesso. Em casos mais leves e de evolução mais longa da doença recomenda-se alimentar os animais.

Profilaxia

A profilaxia é o único meio de se controlar a doença. Esta deve ser feita das seguintes maneiras:

1) *Correção da deficiência de fósforo*, pois esta é a principal causa da osteofagia em bovinos no Brasil. Isto pode ser feito: a) através da correção da deficiência de fósforo no solo, ou b) – pela suplementação de fósforo aos animais.

A correção da deficiência de fósforo no solo é seguramente a medida mais eficiente, pois além de suprir a deficiência desse elemento no animal através da forragem mais rica em fósforo, também eleva o rendimento geral da pastagem; entretanto é uma medida muito dispendiosa. A correção é indicada quando as pastagens são transformadas em cultura e voltam a ser utilizadas como pastagem.

A suplementação de fósforo aos bovinos requer menos investimentos. Ela é geralmente efetuada através da adição, ao sal comum, de farinha de osso ou de fosfato bicálcico defluorizado, próprio para uso animal. As proporções recomendadas são 1 parte de sal comum para 2 partes de farinha de osso, ou sal comum e fosfato bicálcico em partes iguais. A mistura deve estar permanentemente à disposição dos animais, em cochos suficientemente grandes e protegidos contra chuva.

Se houver outras deficiências minerais na região, devendo-se pensar principalmente nas de cobre, cobalto, iodo e eventualmente zinco, recomenda-se a adição desses minerais à mistura nas seguintes proporções:

farinha de osso,	50 kg;		fosfato bicálcico,	25 kg;
sal comum,	25 kg;		sal comum,	25 kg;
sulfato de cobre,	125 g;	ou	sulfato de cobre,	125 g;
sulfato de cobalto,	15 g;		sulfato de cobalto,	15 g;
iodato de potássio,	1 g.		iodato de potássio,	1 g.

O zinco pode ser suplementado sob forma de sulfato ou de óxido de zinco nas quantidades de 200 g ou de 65 g, respectivamente, em ambas as fórmulas acima apresentadas.

2) *Vacinação contra o botulismo*, pois o toxóide botulínico induz uma boa imunidade, protegendo os animais contra a toxina ingerida. Deve-se salientar, porém, se ela é usada sem correção da deficiência de fósforo, o problema é resolvido somente em parte. As outras manifestações da deficiência de fósforo, como raquitismo, osteomalácia, baixa taxa de reprodução, baixa produtividade do rebanho como um todo, bem como a osteofagia, persistirão e a criação de bovinos continuará a ser anti-econômica, apesar da vacinação contra o botulismo.

A plena recompensa pela imunização contra o botulismo só será obtida se esta for executada em conjunto com a correção da deficiência de fósforo.

As vacinações devem ser feitas anualmente no fim da época de seca/início das águas, isto é, nos meses de agosto/setembro. Os animais vacinados pela primeira vez necessitam ser revacinados 45 a 60 dias após. Devem ser vacinados todos os bovinos menos os ainda não desmamados.

3) *Eliminação dos cadáveres dos pastos*. Esta prática previne a multiplicação de *Cl. botulinum* e desta forma reduz a exposição

dos bovinos ao botulismo. Em fazendas de criação extensiva, achar e eliminar todos os cadáveres de animais domésticos e silvestres, inclusive aves, é praticamente impossível; porém deve-se desenvolver esforços em localizar e destruir a maior quantidade possível de cadáveres.

LITERATURA

- Henning M.W. 1949. Animal Diseases in South Africa. 2nd ed. Central News Agency, South Africa.
- Langenegger J., Döbereiner J. & Tokarnia C.H. 1983. Botulismo epizootico em bovinos no Brasil. Agroquímica Ciba Geigy, São Paulo, nº 20.
- Merck Veterinary Manual, 6th ed. 1986, p. 370-372.
- Rosenberger G., Dirksen G., Gründer H.D. & Stöber M. 1970. Krankheiten des Rindes. Paul Parey, Berlin, p. 816-820.
- Smith H.A., Jones T.C. & Hunt R.D. 1972. Veterinary Pathology. 4th ed. Lea and Febiger, Philadelphia, p. 954-955, 1009.

Souza A.M. & Langenegger J. 1987. Esporos de *Clostridium botulinum* em torno de cadáveres decompostos de bovinos em pastagens no Sul de Goiás. Pesq. Vet. Bras. 7(1): 17-22.

Tokarnia C.H., Canella C.F.C., Guimarães J.A., Döbereiner J. & Langenegger J. 1970. Deficiência de fósforo em bovinos no Piauí. Pesq. Agropec. Bras. 5:483-494.

Tokarnia C.H., Langenegger J., Langenegger C.H. & Carvalho E.V. 1970. Botulismo em bovinos no Piauí, Brasil. Pesq. Agropec. Bras. 5:465-472.

Underwood E.J. 1981. The mineral nutrition of livestock. 2nd ed. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, Slough, England.

JEROME LANGENEGGER,
CARLOS HUBINGER TOKARNIA e
JÜRGEN DÖBEREINER

Embrapa-UAPNPSA, Km 47, e
Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro,
23851 Seropédica, RJ.

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Solanum fastigiatum var. *fastigiatum* AND *Solanum* sp. POISONING IN CATTLE: ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN THE CEREBELLUM¹

SEVERO SALES DE BARROS², FRANKLIN RIET-CORREA³, MAURÍCIO BICCA ANDUJAR², CLAUDIO SEVERO LOMBARDO DE BARROS², MARIA DEL CARMEN MÉNDEZ³ and ANA LUCIA SCHILD³

SINOPSE.- Barros S.S., Riet-Correa F., Andujar M.B., Lombardo de Barros C.S., Méndez M.C. & Schild A.L. 1987 [Intoxicação em bovinos por *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* e *Solanum* sp.: alterações ultraestruturais no cerebelo.] *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* and *Solanum* sp. poisoning in cattle: ultrastructural changes in the cerebellum. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 7(1):1-5. Depto Patologia, Univ. Fed. Santa Maria, 97100 Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil.

Três terneiros foram experimentalmente intoxicados, dois com *Solanum* sp. e um com *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum*. Foram estudadas as alterações ultraestruturais induzidas no cerebelo. As lesões foram basicamente as mesmas para os três animais. O citoplasma das células de Purkinje continha numerosas inclusões lipídicas semelhantes às aquelas encontradas nas neurolipidoses hereditárias ou induzidas. Essas inclusões parecem derivar do retículo endoplasmático de onde se originam os corpos lamelares, corpos vesículo-membranosos, corpos citoplasmático-membranosos e corpos densos. Lesões semelhantes ocorreram nos axônios e dentritos dessas células. As evidências morfológicas sugerem que as inclusões lipídicas são o resultado da formação de complexos lipídicos resistentes ao metabolismo, ao invés de resultarem de um defeito lisossômico, tal como ocorre nas lipidoses hereditárias.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Intoxicação por planta, *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum*, *Solanum* sp., doença de armazenamento, degeneração cerebelar, neurolipidose induzida.

ABSTRACT.- The ultrastructural changes in the cerebellum of 2 calves experimentally poisoned with *Solanum* sp. and 1 calf poisoned with *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* are described. The lesions induced were basically the same in all three animals. The perikarya of the Purkinje cells contained numerous lipid inclusions similar to those found in the inherited or induced neurolipidoses. These inclusions seemed to derive from the endoplasmic reticulum from which the lamellar bodies, vesiculo-membranous bodies, cytoplasmic membranous bodies and dense bodies take their origin. Similar changes occurred in the axys cylinders and dendrites of these cells. The morphological evidence suggests that the lipidic inclusions are the result of the formation of lipid complexes resistant to metabolism, rather than a lysosomal defect such as occurs in the inherited lipidoses.

INDEX TERMS: Plant poisoning, *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum*, *Solanum* sp., storage diseases, cerebellar degeneration, induced neurolipidoses.

INTRODUCTION

Natural occurring and experimental poisoning by *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* in cattle was recently described (Riet-Correa et al. 1983, Zambrano et al. 1985). Another *Solanum* sp. with botanical characteristics similar to *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* but not yet fully classified has been demonstrated to induce in cattle clinical signs and lesions identical to those seen in *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* poisoning (Riet-Correa et al. 1983). The clinical signs of the disease were restricted to the central nervous system and characteristic of a cerebellar disorder. The affected animals held their necks in extension, showed an ataxic gait, and presented a wide-based-posture, opisthotonus and nystagmus, falling to one side or backwards. The light microscopic lesions were established (Riet-Correa et al. 1983, Zambrano et al. 1985). They were more prominent in the cerebellum and included degeneration and disappearance of the Purkinje cells, with spheroid formation in the granular layer and white matter. Electron microscopy of formalin fixed material showed proliferation of rough endoplasmic reticulum in a lamellar form and membranous cytoplasmic bodies similar to those encountered in human and animal gangliosidoses (Riet-Correa et al. 1983). Based in the electron microscopic changes it was suggested that the disease could be a lipidosis of the central nervous system induced by the plant (Riet-Correa et al. 1983). In order to clarify the real nature of the ultrastructural changes a more detailed microscopic study

¹Accepted for publication on August 29, 1986.

This work was partially supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) grant nº 406617/84, and Volkswagen Werk Foundation.

²Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, 97100 Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil.

³Laboratório Regional de Diagnóstico, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 96100 Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil.

using freshly glutaraldehyde fixed material was needed. In the present paper, using a material such as that, we describe the ultrastructural changes in the cerebellum of cattle experimentally poisoned with *S. fastigiatum* and with *Solanum sp.* mentioned above and suggest a pathogenetic mechanism for these changes.

MATERIALS AND METHODS

A Jersey calf (n° 1), 6 months old, was dosed daily for 5 days a week with the green leaves of *Solanum sp.* The animal was kept indoors and the plant was offered *ad libitum* each morning; in the afternoon the ration was supplemented with commercial feed. One Holstein calf (n° 2) was dosed daily for five days a week with 400 g of the same dried plant via a surgically implanted rumen canula. Animal n° 3, a 1 year old Holstein steer, was dosed in the same way as the latter, with 400 g of *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* during 353 days, and with 1 kg during the subsequent 267 days. Animal n° 2 and n° 3 were maintained in a 2 hectares paddock of native pasture; at night, from Monday to Friday, they were kept indoors and supplemented with a commercial ration.

During the experiment, the animals were tested weekly for the detection of nervous signs by the head raising test (Pienaar et al. 1976). The duration of dosing, animal weights and amount of plant consumed are shown in Table 1.

The green plant administered to calf n° 1 was collected daily at the Pelotas University Farm. The plants used in the animal n° 2 and 3 were dried in the shade, ground and kept frozen until required.

The animals were killed by exsanguination and small pieces of cerebellar cortex and subcortical white matter were double fixed in sodium cacodylate-buffered 2% glutaraldehyde at 4°C for 2 h, post-fixed in 1% osmium tetroxide in cacodylate-buffer for 1 h at 4°C, dehydrated in ethanol and embedded in Epoxy resin. Semithin sections were stained with toluidine blue and ultrathin sections were double contrasted with uranyl acetate and lead citrate.

RESULTS

Microscopic and ultrastructural lesions in the experimental poisoning with both *Solanum* species in this experiment were essentially the same and will be described together.

Light microscopy. In the semithin toluidine blue-stained sections, the Purkinje cells exhibited 5-20 μ diameter cytoplasmic vacuoles and a number of round dense bodies diffusely distributed within the cytoplasm. The molecular and granular

layers exhibited swollen axons (Fig. 1) and dendrites within which round dense bodies similar to those observed in the perikarya were encountered.

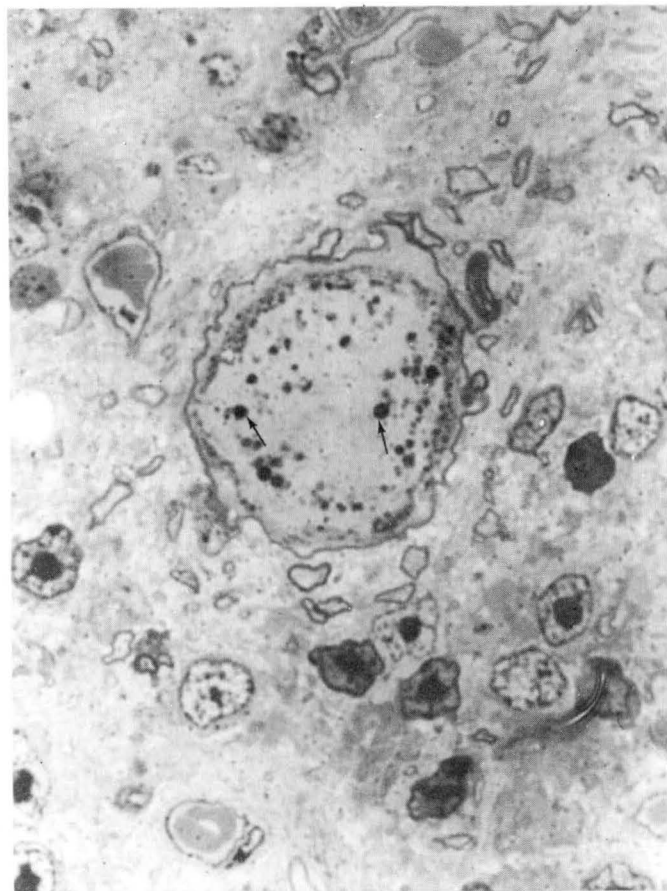


Fig. 1. Swelling of a Purkinje cell in the granular layer. Within the axoplasm, numerous lipidic inclusions are found (arrows). Toluidine blue, obj. 100.

Table 1. Experimental intoxication with *Solanum sp.* and *S. fastigiatum* var. *fastigiatum* in three calves

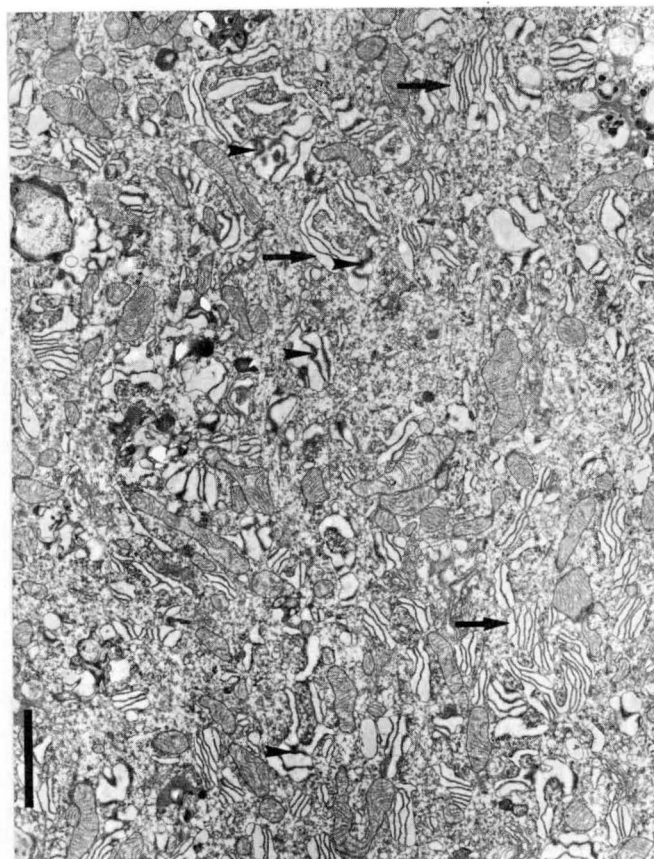
Animal n°	Plant initial given		First symptoms			Slaughter		
	(State)	Body weight (kg)	Body weight (kg)	Time (days)	Plant consumed (kg)	Body weight (kg)	Time (days)	Plant consumed (kg)
1	<i>Solanum sp.</i> (fresh)	82	125	260	117.55	268	639	235.35
2	<i>Solanum sp.</i> (dried)	105	171	106	29.6	200	142	38.70
3	<i>S. fastigiatum</i> (dried)	211	Clinical signs not observed			305	620	245.56

Fig. 2. Purkinje cell perikaryon. Early changes of the endoplasmic reticulum with formation of lamellar bodies (arrows), dilatation of lamellar bodies and deposition of osmiophilic material (arrowhead). Bar = 2 μ m.

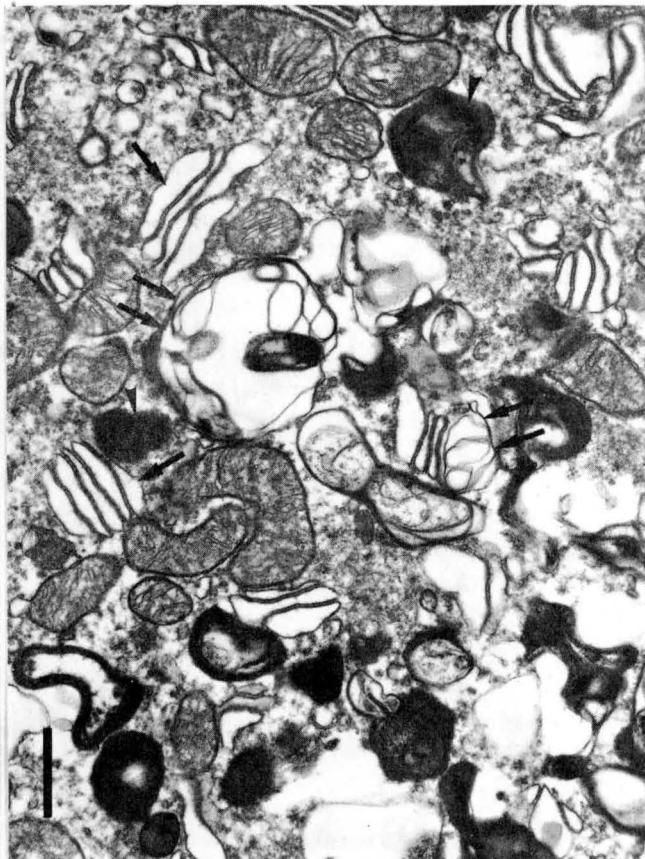
Fig. 3. Purkinje cell perikaryon. Lamellar bodies (arrows) and transitional forms to vesiculo-membranous bodies (double arrows) and dense bodies (arrowheads). Bar = 0,5 μ m.

Fig. 4. Severely affected Purkinje cell perikaryon. Numerous osmiophilic inclusions are present. The majority of these structures are vesiculo-membranous bodies and dense bodies. A few are membranous cytoplasmic bodies. Bar = 0,5 μ m.

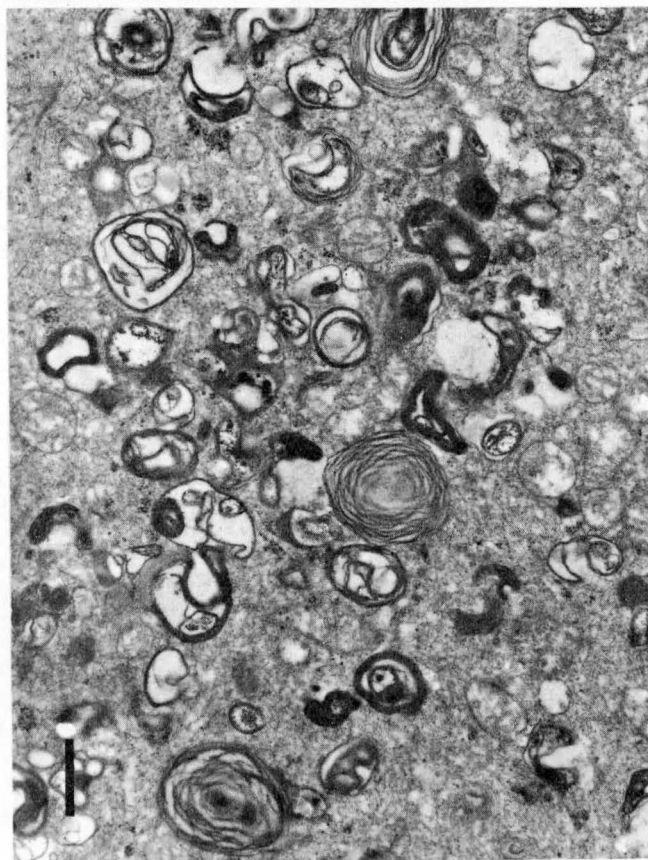
Fig. 5. Severely swollen myelinated Purkinje cell axon with numerous lipidic inclusions, predominantly dense bodies, in the axoplasm. Bar = 2 μ m.



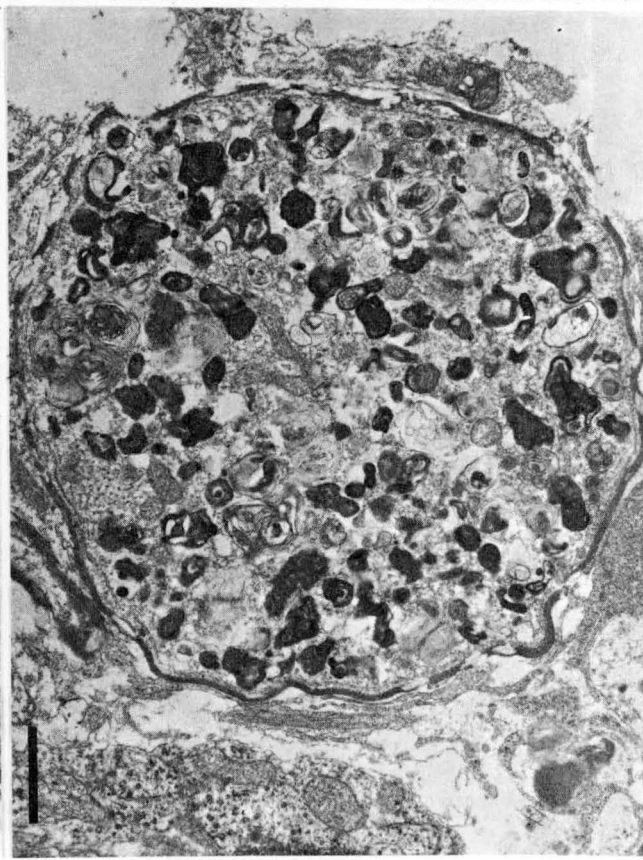
2



3



4



5

Electron microscopy. Changes in the Purkinje cells encompassed a broad spectrum of intensity. Mild changes consisted of so called lamellar body (LB) formation. These were dilated cisternae of endoplasmic reticulum arranged in a parallel fashion with a 30 nm periodicity. Placed between the parallel cisternae was a material which appeared more electron-dense than either the intracisternal contents or the surrounding cytoplasm. The LB apparently underwent further dilatation and folding of their membranes with progressive deposition of electron-dense material. Progressive deposition of this material also occurred within the dilated cisternae and between lamellar structures, with apparent fusion of membranes (Fig. 2). In cells severely affected, there was a remarkable accumulation of osmiophilic inclusions within the perikarya. These inclusions were predominantly vesiculo-membranous bodies (VMB) which consisted of concentric lamellar formations bordering a cavity containing slightly electron-dense material. Within this cavity, complex membrane formations and amorphous dense material were found (Fig. 3). The membranes were arranged as light and dark lamellae with 6 nm periodicity. Dispersed among these inclusions, dense bodies (DB) and a few membranous cytoplasmic bodies (MCB) were found (Fig. 4). Membrane-bound vacuoles of varying size containing granular non-electron-dense material were observed in the cytoplasm of some Purkinje cells. Such structures were also observed by light microscopy. Vesicular formations bound by unitary membranes were found free within these vacuoles. Swelling of some mitochondria was observed but in general they were well preserved. The numbers of microtubules and neurofilaments were markedly decreased. The structures observed as spheroids in the light microscopy appeared in the EM preparations as markedly swollen axons located in the granular layer or in the sub-cortical white matter. In more severely swollen axons the ratio between the number of myelin lamellae and the axon's diameter was one lamella per 1.4μ . The non swollen axons of the same cerebellar cortex revealed a ratio of 9 to 15 lamellas per 1.4μ of axonal diameter. In these swollen axons there was a greater concentration of mitochondria and a marked decrease of microtubules and neurofilaments. There were also great numbers of diffusely distributed osmiophilic inclusions consisting of LB, VMB, MCB and DB, with a predominance of the last (Fig. 5). In milder cases, it was possible to identify in the axoplasm the same close relationship, seen in the perikarya, between the lamellar bodies and the endoplasmic reticulum. Mitochondrial remnants were seldom found within the DB. Axons in different stages of Wallerian degeneration were also observed. In the molecular layer some Purkinje cell dendrites were markedly swollen, with increased numbers of mitochondria and decreased numbers of neurotubules and neurofilaments. Dendrites also showed dilatation of endoplasmic reticulum and formation of LB, VMB and DB. Typical membranous cytoplasmic bodies were rarely found in the dendrites.

DISCUSSION

The cerebellar tissue for electron microscopy used in the previous work with *Solanum fastigiatum* poisoning in cattle (Riet-Correa et al. 1983) was formalin-fixed and not freshly collected. This interferes with a better understanding and evaluation of the subcellular events going on in such type of storage diseases. In the present study the ultrastructural changes induced in the Purkinje cells of the bovine cerebellum by the

experimental poisoning with *S. fastigiatum* var. *fastigiatum* and *Solanum* sp. resembled the neuronal changes which occur in the inherited neurolipidoses of animals and man (Terry & Weiss 1963, O'Brien 1971, Blakemore 1972, Jolly & Blakemore 1973, Jolly & Hartley 1977, Kosanke et al. 1979, Burck et al. 1980, Barlow 1981), and in drug-induced lipidoses (Drenckhahn & Lüllmann-Rauch 1979). These findings suggested the possibility of a storage disease by the plant as was already pointed out by Riet-Correa et al. (1983). In the bovines poisoned with *Solanum* spp. the lesions were restricted to the central nervous system and particularly to the cerebellum in which they were most prominent (Riet-Correa et al. 1983). This distribution, which has been established both in the spontaneously-occurring and experimentally-induced poisoning by the plant (Riet-Correa et al. 1983), differs from that described in some drug-induced lipidoses of man and animals in which the lesions are observed in the central and peripheral nervous system (Drenckhahn & Lüllmann-Rauch 1979) and in other tissues.

Morphological evidence indicates that the membranous inclusions found in the perikarya and in the cell processes are related to the endoplasmic reticulum. Such a relationship has already been established in cases of Nieman Pick disease (Wallace et al. 1966).

Lamellar cytoplasmic bodies are structures which have been described in normal and in pathological neurons (Bestetti & Rossi 1980) in association with endoplasmic reticulum. Such an association was also observed in our cases. The large number of these structures and their clear connection with the VMB suggest that the lipidic inclusions induced in the Purkinje cell by *Solanum* spp. in our cases may have their origin in the LB. In the early changes of the endoplasmic reticulum and in the VMB it was not possible to discern a distinct limiting membrane, which is only observed in MCB and DB. This morphological observation might suggest that the primary change does not result from a lack of lysosomal lipid degradation but from modification in the membrane structures of endoplasmic reticulum, with formation of LB and VMB, which would subsequently be included in the lysosomes as MCB and DB. The DB might represent more advanced stages of VMB and MCB, as was suggested in cases of Tay-Sachs disease (Terry & Weiss 1963). Transitional forms between LB, MCB and DB could be observed in perikarya, axons and dendrites of Purkinje cells in our cases. This suggest a local origin of the inclusions in axons and dendrites. A sequence of events supporting this hypothesis on the formation of inclusions is suggested in Fig. 2 and 3. In previous work with *S. fastigiatum* poisoning in cattle (Riet-Correa et al. 1983) LB and MCB were described but no MVB and DB, and no association was made between the endoplasmic reticulum and the formation of lipidic inclusions. This discrepancy with our findings probably is due to the unsatisfactory method of fixation, since the cerebellum was immersed in formalin; this obviously interferes with the preservation of sub-cellular structures with disruption of membranes, spatial derangements of endoplasmic reticulum and Golgi system and swelling and fragmentation of the mitochondrial cristae. The accumulation of organelles and inclusions, whether locally of from the perikarya, causes axonal swelling and consequent enlargement of axonal circumference and decrease in the turns of myelin lamellae due to slippage of the lamellae. A linear relationship exists between the number of turns in myelin lamellae and the axonal diameter which permits one to estimate the degree of axonal swelling (Friede & Samorajski 1967, Frie & Martinez 1970). In our cases we

observed cells with marked increase in the diameter of axis cylinders (Fig. 1 and 5).

Rarely was it possible to identify mitochondrial remnants in DB of axons and dendrites, as is also the case in drug-induced lipidosis (Drenckhahn & Lüllmann-Rauch 1979). We were also unable to detect any difference between the lipid inclusions of the perikarya and those of neuronal processes.

We can speculate that the cytoplasmic changes in *Solanum* spp. poisoning, with storage of lipidic material, might be the result of physico-chemical interaction between the active principle of the plant and lipids, with formation of a complex which would be less susceptible to enzymatic degradation than normal lipids. This may lead to an intralysosomal accumulation in a fashion similar to that suggested in drug-induced lipidoses (Drenckhahn & Lüllmann-Rauch 1979). In those conditions it was pointed out that the membranes of the inclusions should be considered aggregations of polar lipids in lamellar phases rather than genuine biomembranes (Drenckhahn & Lüllmann-Rauch 1979).

Acknowledgements.— The authors are deeply grateful to Dr. Stuart Young, Colorado State University, for his advice and help with the English manuscript, and to Mrs. Yara Ethur Flores and Mrs. Paulina Lameira for their technical assistance.

REFERENCES

- Barlow R.M. 1981. Morphogenesis of cerebellar lesions in bovine familial convulsions and ataxia. *Vet. Pathol.* 18:151-162.
- Bestetti G. & Rossi G.L. 1980. The occurrence of cytoplasmic lamellar bodies in normal and pathologic conditions. *Acta Neuropathol.* 49:75-78.
- Blakemore W.F. 1972. GM₁-Gangliosidosis in cat. *J. Comp. Path.* 82:179-185.
- Burck V., Harzer K., Goebel H.H., Elze K.L., Held K.R. & Carstens L. 1980. Ultrastructural pathology of skin biopsy and fibroblast enzyme studies in a case of GM₂-Gangliosidosis with deficient hexosaminidase A and thermolabile hexosaminidase B. *Neuropädiatrie* 11:161-175.
- Drenckhahn D. & Lüllmann-Rauch R. 1979. Drug-induced experimental lipidoses in the nervous system. *Neuroscience* 4:697-712.
- Friede R.L. & Samorajski T. 1967. Relation between the number of myelin lamella and axon circumference in fibers of vagus and sciatic nerves of mice. *J. Comp. Neurol.* 130:223-232.
- Friede R.L. & Martinez A.J. 1970. Analysis of the process of sheath expansion in swollen nerve fibers. *Brain Res.* 19:165-182.
- Jolly R.D. & Blakemore W.F. 1973. Inherited lysosomal storage disease: An essay in comparative medicine. *Vet. Rec.* 92:391-400.
- Jolly R.D. & Hartley W.J. 1977. Storage disease of domestic animals. *Aust. Vet. J.* 53:1-8.
- Kosanke S.D., Pierce K.R. & Red W.K. 1979. Morphogenesis of light and electron microscopic lesions in porcine GM₂-Gangliosidosis. *Vet. Pathol.* 16:6-17.
- O'Brien J.S. 1971. Gangliosidose-storage diseases. *N. Engl. J. Med.* 284:893-896.
- Pienaar J.G., Kellerman T.S., Basson P.A., Jenkins W.L. & Vahrmeijer J. 1976. Maldronsiekte in cattle. A neuropathy caused by *Solanum kwebense*. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 43:67-74.
- Riet-Correa F.J., Méndez M.C., Schild A.L., Summers B.A. & Oliveira J.A. 1983. Intoxication by *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* as a cause of cerebellar degeneration in cattle. *Cornell Vet.* 73:240-256.
- Terry R.D. & Weiss M. 1963. Studies in Tay-Sachs disease. Ultrastructure of the cerebrum. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 22:18-55.
- Wallace B.J., Volk B.W., Schenck L. & Kaplan H. 1966. Fine structural localization of two hydrolytic enzymes in the cerebellum of children with lipidoses. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 25:76-96.
- Zambrano M., Riet-Correa F., Schild A.L., Méndez M.C. 1985. Intoxicação por *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum*: evolução e reversibilidade das lesões em bovinos e susceptibilidade em ovinos, coelhos, cobaias e ratos. *Pesq. Vet. Bras.* 5(4):133-141.

MICOBACTÉRIAS ATÍPICAS ISOLADAS DE NÓDULOS DA ESOFAGOSTOMOSE BOVINA¹

PEDRO M. P. C. MOTA², JEROME LANGENEGGER³ e CHARLOTTE HUBINGER LANGENEGGER³

ABSTRACT.- Mota P.M.P.C., Langenegger J. & Langenegger C.H. 1986. [Atypical mycobacteria isolated from intestinal lesions of Bovine Oesophagostomosis.] Micobactérias atípicas isoladas de nódulos da esofagostomose bovina. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 7(1):7-10. Embrapa-UAPNPSA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851, Brazil.

It was found that 90% of 1 to 9 year old cattle from southwestern Brazil had nodular intestinal lesions of Oesophagostomosis in the final portion of the ileum and in the cecum. The number of nodules varied from 1 to 53 and their diameter from 1 to 19 mm. The cut surface of the larger nodules showed a dry yellowish caseous material, and some times fragments of *Oesophagostomum radiatum* larvae could be observed. Bacteriological examination of 400 samples taken from the intestinal wall with and without lesions resulted in isolation of 42 (5,2%) cultures of atypical mycobacteria. Thirty cultures originated (71,4%) from nodular material and 12 (28,6%) from the portion without lesion. Twenty three (54,8%) cultures belonged to the Runyon group IV and 19 (45,2%) to group II and III. There were 4 cultures of *Mycobacterium scrofulaceum*, 7 of the *M. terrae*-complex and 8 of *M. intracellulare*. Fifteen (78,9%) of these cultures were isolated from the nodular lesions and only 4 (21,0%) from the part without nodules. The present results suggest that the nodular lesion caused by *Oesophagostomum radiatum* larvae is a predisposing factor for the penetration and multiplication of atypical mycobacteria in the intestinal wall. Consequently inespecific allergic reactions to tuberculinization may develop.

INDEX TERMS: Mycobacteriosis, predisposition, Oesophagostomosis, cattle, inespecific allergic reactions.

SINOPSE.- Na região sudeste do Brasil foram encontrados nódulos de esofagostomose na mucosa intestinal da porção final do íleo e do ceco em 90% dos bovinos, variando a faixa etária de 1 a 9 anos de idade. O número de nódulos variou de 1 a 53, e o tamanho destes de 1 a 19 mm de diâmetro, tendo a maioria de 2 a 3 mm. Ao corte, os nódulos maiores continham massa caseosa, ressecada de coloração branco-amarelada, às vezes esverdeada. Em alguns foi observada a presença de larva de *Oesophagostomum radiatum*. A cultura de 400 materiais com nódulos e outros 400 sem, permitiram o isolamento de 42 (5,2%) culturas de micobactérias, sendo 30 (71,4%) oriundas de materiais com nódulos e 12 (28,6%) dos materiais sem nódulos. A identificação das culturas revelou que 23 (54,8%) pertenciam ao grupo IV de Runyon, consideradas saprófitas e 19 (45,2%) se enquadraram nos grupos II e III, consideradas facultativamente patogênicos, sendo 4 culturas *Mycobacterium scrofulaceum*, 7 do complexo *M. terrae* e 8 de *M. intracellulare*. Destas 19 culturas, 15 (78,9%) foram isoladas da porção da mucosa com nódulos e apenas 4 (21,0%) da mucosa sem nódulo. O presente resultado sugere que as larvas de *O. radiatum* predispõem a penetração e multiplicação de mico-

bactérias atípicas nos nódulos da esofagostomose e, consequentemente, estas provocam sensibilização alérgica inespecífica observada na tuberculização.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Micobacteriose, predisposição, esofagostomose, bovinos.

INTRODUÇÃO

A participação de micobactérias atípicas na sensibilização alérgica inespecífica no diagnóstico da tuberculose foi demonstrado experimentalmente com várias espécies e sorotipos de micobactérias isoladas do meio ambiente (Fodstad 1977, Pearson et al. 1977), bem como de germes isolados de animais (Kleeberg 1960, Karlson 1962, Pritchard et al. 1974, Corner & Catharine 1978a, 1978b, 1979, Corner 1981, Ketterer et al. 1981).

O contato de micobactérias atípicas com o homem e os animais estabelece-se, em diversas circunstâncias possivelmente em maior frequência através da água e de alimentos, podendo ser também através de aerossóis, pois, o solo se constitui no "habitat" natural destas micobactérias (Kubica et al. 1963, Wolinsky & Pyneerson 1968, George et al. 1980, Songer 1980, Ketterer et al. 1981).

Vários fatores, no entanto, podem contribuir para que as micobactérias atípicas penetrem e se instalem no organismo animal, provocando reações paralérgicas no diagnóstico alérgico da tuberculose.

¹ Aceito para publicação em 17 de setembro de 1986.

Parte da tese de Mestrado do primeiro autor, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1986.

² Laboratório Nacional de Referência Animal, Pedro Leopoldo, Minas Gerais 33600.

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

Hejj et al. (1969) puderam demonstrar experimentalmente que a alta incidência de reações alérgicas inespecíficas no diagnóstico alérgico da tuberculose bovina estava relacionada com a fasciolose da região. A infestação por *Fasciola hepatica* tornou-se o fator circunstancial, pois as larvas deste parasita desenvolvem-se em locais úmidos onde também vivem micobactérias "atípicas". Neste ambiente as cercárias, carregando micobactérias, são ingeridas pelo bovino com a água e o alimento. No intestino delgado, com a migração das cercárias de *F. hepatica*, através da parede intestinal, peritônio e pelo parênquima hepático, também são levadas as micobactérias que podem implantar-se ao longo do trajeto migratório. A presença e colonização de micobactérias "atípicas" nesse trajeto produziram a sensibilização alérgica.

Lami et al. (1970) encontraram micobactérias "atípicas" em granulomas subcutâneos pós-vacinais de bovinos reagentes e com estes germes reproduziram experimentalmente reações inespecíficas em bezerros, demonstrando assim que vacinas contaminadas com micobactérias podem constituir-se em veículo de infecção e da sensibilização alérgica de animais do diagnóstico alérgico da tuberculose.

Langenegger et al. (1976), trabalhando com um rebanho de 327 bovinos portadores de reações inespecíficas, no Estado de São Paulo, observaram que as fezes de suínos, utilizadas para a adubação da capineira, procediam da criação de suínos cujos animais apresentavam alta incidência de linfadenites tuberculoides causadas por sorotipos de *Mycobacterium intracellulare*. Admitiram que os bovinos se contaminavam através da forragem da capineira suplementada durante o período seco, pois as reações alérgicas inespecíficas se manifestavam mais acentuadamente durante e após esta suplementação alimentar.

Partindo da observação de que ocorreram 9,7% de reações alérgicas inespecíficas encontradas na tuberculização de bovinos nas bacias leiteiras do Rio de Janeiro, São Paulo e Minas Gerais (Langenegger et al. 1981), levantou-se a hipótese de que as larvas de *Oesophagostomum radiatum* pudessem, à semelhança das cercárias de *F. hepatica*, veicular micobactérias através da mucosa e ali se desenvolverem nos nódulos localizados principalmente no final do fêto e no ceco, a ponto de sensibilizarem os animais. Neste sentido, procurou-se demonstrar bacteriológicamente a presença de micobactérias atípicas nos nódulos da esofagostomose em bovinos infectados naturalmente.

MATERIAL E MÉTODOS

O material de exame foi colhido de bovinos, variando a faixa etária de 1 a 9 anos, a maioria vacas de descarte, procedentes de 19 municípios dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro e constou de 400 porções da parede intestinal com 2 cm de diâmetro, contendo nódulos de esofagostomose e 400 partes sem nódulos, cortadas logo ao lado daquelas e que serviram de testemunha.

No local da matança eram separados o fêto e o ceco do resto do intestino e após abrir longitudinalmente, afastar as fezes e lavar a mucosa com água corrente, eram contados os nódulos. A parte da parede intestinal, com maior número de nódulos da esofagostomose era acondicionada em sacos plásticos e transportada ao laboratório em caixa isotérmica com gelo. No laboratório, o intestino era distendida sobre uma tábua com superfície lisa, limpa e desinfetada e com o auxílio de um vazador de couro com diâmetro de 2 cm, eram recortadas partes do intestino com e sem nódulos. As partes com nódulos recebiam números ímpares e as sem nódulos os números pares. Cada nódulo colhido era medido e descrito a sua aparência.

Cada material, antes de processá-lo bacteriológicamente, era mergulhado em álcool seguido de rápida flambagem para eliminar germes de contaminação externa e então triturado em gral e aréa estéreis. A descontaminação e a sementeira foram realizadas de acordo com a técnica adotada por Langenegger & Langenegger (1974). As culturas foram incubadas em es-

tufa bacteriológica a 37°C durante 2 meses, fazendo-se controles bi-semanais para registrar a velocidade de crescimento, forma e coloração de colônias suspeitas de micobactérias. Quando estas atingiam desenvolvimento adequado, era controlada a álcool-ácido-resistência através de esfregaços corados pelo método de Ziehl-Nielsen. Partindo-se de uma colônia suspeita, a identificação bioquímica e sorológica das micobactérias seguia à rotina adotada por Mota et al. 1982.

RESULTADOS

A infecção macroscópica da mucosa intestinal da porção final do fêto e do ceco de bovinos, procedentes de 19 municípios do Estado do Rio de Janeiro e do sul de Minas Gerais (Quadro 1), mostrou que 90% dos animais apresentavam pelo menos um nódulo na parede intestinal com as características da esofagostomose.

O número de nódulos variou de 1 a 53 e em 20% dos animais havia mais do que 20 nódulos, concentrados principalmente no final do fêto. O exame macroscópico mostrou que as lesões nodulares faziam nítida e pronunciada saliência para a luz intestinal, medindo entre 1 a 19 mm de diâmetro, tendo a maioria destes 2 e 3 mm de diâmetro. Ao corte, os nódulos maiores continham, em seu interior, massa caseosa, bastante ressecada, de coloração branco-amarelada, às vezes esverdeada. Em alguns nódulos pode ser observada, à vista desarmada, a presença de larva de *Oesophagostomum radiatum*. A relação do tamanho e freqüência dos nódulos, bem como de micobactérias isoladas, estão apresentadas no Quadro 2.

O exame bacteriológico, através da sementeira do triturado das partes com e sem nódulos, permitiu o isolamento de 42 (5,2%) culturas de micobactérias e destas 30 (71,4%) foram oriundas da porção do material com nódulos da esofagostomose enquanto que apenas 12 (28,6%) culturas puderam ser obtidas da porção intestinal sem nódulos (Quadro 3).

A identificação de 42 culturas revelou que 23 (54,8%) apresentavam crescimento rápido enquadrando-se no grupo IV de

Quadro 1. Procedência dos materiais coletados nos municípios dos Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro em 1983

Estado	Município	Número de materiais coletados	
		Com nódulo	Sem nódulo
Minas Gerais	Alto Rio Doce	18	18
	Barbacena	7	7
	Betim	23	23
	Bom Despacho	11	11
	Brumadinho	20	20
	Cruzília	24	24
	Igarapé	24	24
	Itajubá	6	6
	Itaúna	6	6
	Lagoa da Prata	12	12
	Pedro Leopoldo	18	18
	Santa Rita do Sapucaí	11	11
	São Gonçalo do Sapucaí	20	20
Rio de Janeiro	Barra Mansa	24	24
	Cantagalo	28	28
	Macaé	33	33
	Magé	24	24
	Miracema	44	44
	Paracambi	25	25
Total		400	400

Quadro 2. *Diâmetro, número de nódulos e micobactérias isoladas em fragmentos da parede do intestino de bovinos dos Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro em 1983*

Diâmetros dos nódulos (mm)	Nº de materiais com nódulo	Nº de materiais sem nódulo	Culturas de micobactérias isoladas de materiais com nódulo	Culturas de micobactérias isoladas de materiais sem nódulo
1	28	—	—	—
2	137	—	12	—
3	94	—	7	—
4	54	—	6	—
5	26	—	3	—
6	19	—	—	—
7	5	—	—	—
8	20	—	—	—
9	3	—	—	—
10	10	—	1	—
15	2	—	1	—
18	1	—	—	—
19	1	—	—	—
Total	400	400	30	12

Quadro 3. *Frequência de micobactérias isoladas em fragmentos com e sem nódulo da parede do intestino de bovinos dos Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro em 1983*

Tipo de material	Positivo	Negativo	Total
Com nódulo	30 (7,5%)	370 (92,5%)	400
Sem nódulo	12 (3,0%)	388 (97%)	400
Total	42 (5,2%)	758 (94,8%)	800

Quadro 4. *Distribuição das micobactérias isoladas em bovinos dos Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro, em 1983, segundo sua velocidade de crescimento*

Velocidade de crescimento	Nº de micobactérias isoladas	Nº de micobactérias em materiais com nódulo	Nº de micobactérias em materiais sem nódulo
Rápida	23 (54,8%)	15 (65,2%)	8 (34,8%)
Lenta	19 (45,2%)	15 (78,9%)	4 (21,1%)
Total	42	30	12

Runyon e consideradas saprófitas. As outras 19 (45,2%) demonstraram desenvolvimento lento, característica cultural das micobactérias dos grupos II e III de Runyon, cujas espécies e sorotipos apresentam certa patogenicidade para o homem e para os animais. A grande maioria (78,9%) destas 19 micobactérias de crescimento lento foi isolada de materiais com nódulos (Quadro 4). As características culturais, bioquímicas e sorológicas das 19 culturas de crescimento lento permitiram reconhecer 8 (42,1%) como *Mycobacterium intracellulare*, 7 (36,8%) pertencentes ao complexo *M. terrae* e 4 (21,1%) como sendo *M. scrofulaceum* (Quadro 5).

Baseado ainda na classificação de Runyon (1959), as 42 culturas de micobactérias atípicas isoladas tiveram a seguinte distribuição em relação às partes do intestino com e sem nódulos: das 4 culturas de *M. scrofulaceum* (grupo II de Runyon) duas foram isoladas de material com nódulos da esofagostomose; das 8 cul-

Quadro 5. *Características culturais, bioquímicas e sorológicas das micobactérias de crescimento lento isoladas de bovinos dos Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro em 1983*

Nº da amostra	Pigmento	Catalase		Nitrito	Tween 80		Arlisulfatase		Espécies	Sorotipos
		T.A. ^a	68°C		5	21 dias	3	14 dias		
231	b	+++	++	-	+	++	+++	Compl. <i>M. terrae</i>	** ^c	
244	-	+++	+	+++	+	++	+++	Compl. <i>M. terrae</i>	**	
269	-	+++	+	-	+	+	++	<i>M. intracellulare</i>	9	
291	-	++	+	-	-	+	+	<i>M. intracellulare</i>	6	
457	-	+++	++	-	-	+	++	Compl. <i>M. terrae</i>	**	
487	-	+++	++	-	+	++	++	Compl. <i>M. terrae</i>	**	
489	-	+++	++	-	+	++	++	Compl. <i>M. terrae</i>	**	
491	+	++	+	-	-	++	++	<i>M. scrofulaceum</i>	*	
493	+	+++	+++	+++	-	+++	+++	<i>M. scrofulaceum</i>	*	
479	-	+++	+	+++	+	+	++	Compl. <i>M. terrae</i>	**	
514	-	+++	+	-	+	++	++	<i>M. intracellulare</i>	*	
519	-	++	+	-	+	+	++	<i>M. intracellulare</i>	16	
531	-	+++	++	+++	-	++	+++	Compl. <i>M. terrae</i>	**	
705	-	++	+	-	-	+	++	<i>M. intracellulare</i>	15	
706	+	+++	+	-	-	+++	+++	<i>M. intracellulare</i>	*	
713	-	+++	+	+	-	++	++	<i>M. scrofulaceum</i>	9	
715	-	+++	+	-	-	+	+	<i>M. intracellulare</i>	9	
722	+	+++	+	-	-	+	++	<i>M. intracellulare</i>	*	
729	-	+++	+	-	-	++	++	<i>M. scrofulaceum</i>	*	
								<i>M. intracellulare</i>	8	

^aT.A. = Temperatura ambiente.

b — Sem alteração, + alteração fraca, ++ média, +++ forte, ++++ muito forte.

c * Não tipáveis sorologicamente, ** não identificadas sorologicamente.

Quadro 6. *Distribuição das micobactérias isoladas em bovinos dos Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro em 1983, segundo classificação de Runyon (1959)*

Grupos	Nº de micobactérias em materiais com nódulo	Nº de micobactérias em materiais sem nódulo	Total de micobactérias isoladas
I	—	—	—
II	2	2	4
III	13	2	15
IV	15	8	23
Total	30	12	42

turas de *M. intracellulare* (sorotipos 6, 8, 9, 15 e 16) e das 7 do complexo *M. terrae* (grupo III de Runyon), 13 foram isoladas da parte do material com nódulos e apenas duas do sem nódulos; das 23 culturas de crescimento rápido (grupo IV de Runyon) 15 foram oriundas do material com nódulos e 8 do material sem nódulos da esofagostomose (Quadro 6).

DISCUSSÃO

A presente pesquisa veio fortalecer a hipótese de que as larvas L3 de *Oesophagostomum radiatum* abrem caminho para a penetração de micobactérias atípicas presentes na luz intestinal, através da mucosa lesada, para o interior dos nódulos onde podem se multiplicar e permanecer viáveis. O maior número de culturas isoladas da porção da mucosa com nódulos (71,4%) e a grande maioria (78,9%) de micobactérias facultativamente patogênicas encontrada nos nódulos mostra que as larvas de *O. radiatum* podem constituir-se em fatores predisponentes da sensibilização alérgica inespecífica que interfere no diagnóstico alérgico da tuberculose. Esta circunstância assemelha-se à descoberta de Hejj et al. (1969) em que o fator predisponente eram as cercárias de *Fasciola hepatica* que, em seu trajeto migratório, carream e implantava micobactérias atípicas responsáveis pelas falsas reações alérgicas na tuberculização.

O número relativamente pequeno de nódulos portadores de micobactérias (5,2%), na realidade seria muito maior se fossem examinados bacteriologicamente todos os nódulos presentes na mucosa intestinal de um animal. Por isto, independentemente de outras possíveis vias de infecção por micobactérias atípicas como a das amígdalas (Langenegger & Langenegger 1976), o resultado da presente pesquisa permite admitir que a esofagostomose contribui como fator predisponente e justifica a ocorrência de 9,7% de reações alérgicas inespecíficas na tuberculinização de bovinos na Região Sudeste (Langenegger et al. 1981).

REFERÊNCIAS

- Corner L.A. 1981. The duration of the response of cattle to inoculation with atypical mycobacteria. *Aust. Vet. J.* 57(5):216-219.
- Corner L.A. & Catherine W.P. 1978a. Pathogenicity of cattle of atypical mycobacteria isolated from feral pigs and cattle and the correlation of lesions with tuberculin sensitivity. *Aust. Vet. J.* 54(6):280-286.
- Corner L.A. & Catherine W.P. 1978b. Response of cattle to inoculation with atypical mycobacteria of bovine origin. *Aust. Vet. J.* 54(8):379-382.
- Corner L.A. & Catherine W.P. 1979. Response of cattle to inoculation with atypical mycobacteria of bovine origin. *Aust. Vet. J.* 55(1):6-9.
- Fodstad F.H. 1977. Tuberculin reaction in bulls and boars sensitized with atypical mycobacteria from sawdust. *Acta Vet. Scand.* 18(3):374-383.
- George K.L., Parker B.C., Gruft & Falkinham J.O. 1980. Epidemiology of infection by non tuberculous mycobacteria. II. Growth and survival in natural waters. *Am. Rev. Resp. Dis.* 122(1):89-94.
- Hejj L., Nyredy I. & Tuboly S. 1969. Ueber die Rolle Leberegel in der Ausbildung der Tuberkulinallergie bei Rindern. *Zentralbl. Bakteriologie, I. Orig.*, 210:387-396.
- Karlson A.G. 1962. Nonspecific or cross-sensitivity reactions to tuberculin in cattle. *Adv. Vet. Sci.* 7:147-181.
- Ketterer P.J., Rogers R.J. & Donald B. 1981. Pathology and tuberculin sensitivity in cattle inoculated with *Mycobacterium avium* complex, serotypes 6, 14 and 18. *Aust. Vet. J.* 57(2):61-65.
- Kleeberg H.H. 1960. The tuberculin test in cattle. *J.S. Afr. Vet. Med. Assoc.* 31(2):213-225.
- Kubica G.P., Beam R.E. & Palmer J.W. 1963. A method of the isolation of unclassified acid fast bacilli from soil and water. *Am. Rev. Resp. Dis.* 88:718-720.
- Lami G., Kardevan A., Ivanyi T.S., Gonye S. & Tuboly S. 1970. Settlement of mycobacteria in albuminum hydroxide-induced cutaneous granuloma of cattle. *Acta. Vet. Acad. Sci., Budapest*, 20:91-102.
- Langenegger C.H. & Langenegger J. 1974. Linfadenites cervicais tuberculosas e pseudotuberculosas em suínos de abate de Pernambuco. *Pesq. Agropec. Bras., Ser. Vet.* 9(7):33-40.
- Langenegger C.H. & Langenegger J. 1976. Micobactérias atípicas isoladas de amígdalas e linfonodos de bovinos. *Pesq. Agropec. Bras., Ser. Vet.* 11(9):37-42.
- Langenegger J., Langenegger C.H., Mota P.M.P.C. & Leite R.C. 1981. Reações inespecíficas no diagnóstico alérgico da tuberculose bovina. *Pesq. Vet. Bras.* 4(1):145-149.
- Langenegger J., Langenegger C.H., Ramos A.A. 1976. Reações inespecíficas no diagnóstico da tuberculose em bovinos causados por *Mycobacterium intracellulare*. *Pesq. Agropec. Bras., Ser. Vet.* 11(9):65-71.
- Mota P.M.P.C., Langenegger C.H., Leite R.C. & Langenegger, J. 1980. Micobactérias isoladas de suínos do Estado de Minas Gerais. *Revta Microbiol., S. Paulo*, 11:29-33.
- Pearson C.W., Corner C.A. & Lepper A.W.D. 1977. Tuberculin sensitivity of cattle inoculated with atypical mycobacteria isolated from cattle, pigs and trough water. *Aust. Vet. J.* 53(2):67-71.
- Pritchard D.G., Stanford J.C. & Paul R.C.A. 1974. A preliminary study of delayed hypersensitivity to *Mycobacterium chelonae*, *M. fortuitum*. (RANAE) and *Mycobacterium gordonae* in cattle from two areas in Uganda. *Br. J. Exp. Pathol.* 55(4):374-383.
- Runyon E.H. 1959. Anonymus mycobacteria in pulmonary disease. *Med. Clin. North Am., Philadelphia*, 43:273-290.
- Songer J.G. 1980. Environmental sources of *Mycobacterium avium* for infection of animals and man. *Proc. M. S. Anim. Health Assoc., Richmond*, 84:528-535.
- Wolinsky E. & Ryneerson T.K. 1968. Mycobacteria in soil and their relation to disease associated strains. *Am. Rev. Resp. Dis.* 97(1):1032-1037.

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) EM COELHOS¹

CARLOS HUBINGER TOKARNIA², JÜRGEN DÖBEREINER³ e CAMILLO F. C. CANELLA⁴

ABSTRACT.- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Canella C.F.C. 1987. [Experimental poisoning by *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) in rabbits.] Intoxicação experimental por *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) em coelhos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 7(1): 11-16. Depto Nutrição Animal, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, and Embrapa-UAPNPSA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851, Brazil.

Dried and powdered leaves or fruit of *Mascagnia rigida* (fam. Malpighiaceae), a plant toxic for cattle and goats, were administered by stomach tube to 14 and 10 rabbits, respectively. The plant collected in June, 1984, in the county of Colatina, valley of the Rio Doce, State of Espírito Santo, kept in the shade at room temperature, and administered approximately 3 to 12 months later, was toxic for rabbits. Regarding the lethal dose of the leaves, 4 grams per kilogram of body weight caused the death of all seven rabbits in that group, while 2 g/kg killed none of other seven rabbits. Regarding the fruit, doses of 0.5 g/kg and above caused death of all three rabbits, 0.25 g/kg killed three of four, and 0.125 g/kg one of two rabbits. Thus, the fruit was approximately 20 times as toxic as the leaves. The first symptoms were noted with leaves from 5h 47min to 11h 35min, and with fruit from 1h 15min to 28h 13min after ingestion. The course of the poisoning in the case of the leaves lasted from 1 to 2 minutes, in the case of the fruit from 1 to 4 minutes. The symptoms were the same in rabbits receiving leaves or fruit, those of "sudden death": the rabbits made sudden uncontrolled movements after which they fell on their side; some animals just fell onto their side; some screamed; respiration became difficult and intermittent and the animals died. The main post-mortem findings were in the liver and lungs. Congestion was noted in both the lungs and liver, and liver lobulation could also be observed. Microscopic lesions were present in liver, kidney and heart, and were essentially degenerative and vascular in nature.

These experiments show that the rabbit can be used as small laboratory animal in the continuation of the studies on the toxicity of the plant and in the identification of its toxic principles. Leaves and fruit probably contain the same toxic elements.

INDEX TERMS: Poisonous plants, experimental plant poisoning, *Mascagnia rigida*, Malpighiaceae, rabbits, pathology.

SINOPSE.- As folhas e os frutos dessecados de *Mascagnia rigida* Griseb., da família Malpighiaceae, planta tóxica para bovinos e caprinos, foram administrados a 14 e 10 coelhos, respectivamente. A planta, colhida em junho de 1984, no município de Colatina, no vale do Rio Doce, no Estado do Espírito Santo, dessecada e guardada na sombra à temperatura ambiente, e administrada aproximadamente 3 a 12 meses após, demonstrou possuir toxidez para coelhos. Em relação à dose letal das folhas, 4 g/kg causaram a morte de todos os 7 coelhos e 2 g/kg não causaram a morte de nenhum dos 7 coelhos; em relação aos frutos, dose de 0,5 g/kg ou maiores causaram a morte de todos os 3 coelhos, 0,25 g/kg, de 3 dos 4, e 0,125, de 1 dos 2 coelhos que os receberam nessas do-

ses. Desta maneira, os frutos foram aproximadamente 20 vezes mais tóxicos que as folhas. Os coelhos mostraram os primeiros sintomas de intoxicação, no caso das folhas, entre 5h 47min e 11h 35min, e no caso dos frutos, entre 1h 15min e 28h 13min, após a sua administração. A evolução do quadro clínico, no caso das folhas, foi de 1 a 2, e no caso dos frutos, de 1 a 4 minutos. O quadro clínico foi o mesmo, tanto nos coelhos que receberam as folhas como nos que receberam os frutos. Esse quadro foi o da síndrome da "morte súbita", isto é, os coelhos, de repente, fizeram movimentos desordenados e logo em seguida caíram em decúbito lateral; outros simplesmente caíram em decúbito lateral; alguns dos coelhos emitiram gritos; a respiração tornava-se difícil, espaçada e o animal morria. Os achados de necropsia principais eram do fígado e pulmão; o primeiro tinha a lobulação perceptível e congestão, o segundo tinha congestão. Os exames histopatológicos revelaram alterações no fígado, rim e coração, consistindo principalmente em alterações degenerativas e vasculares.

Esses experimentos mostram que o coelho pode ser usado como animal experimental de pequeno porte na continuação dos

¹Aceito para publicação em 24 de outubro de 1986.

²Departamento de Nutrição Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851; bolsista do CNPq (1111.5010/76).

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

⁴Médico Veterinário, R. Plínio Magalhães 49, Parque Mello Afonso, 27700 Vassouras, RJ; bolsista do CNPq (30.4776-VT-07).

estudos da toxidez da planta e na identificação de seus princípios ativos. É provável que as folhas e os frutos encerrem os mesmos princípios tóxicos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, intoxicação experimental por planta, *Mascagnia rigida*, Malpighiaceae, coelho, patologia.

INTRODUÇÃO

Mascagnia rigida (Juss.) Griseb., cipó ou arbusto escandente da família Malpighiaceae, é a planta tóxica mais conhecida, mais difundida e a mais importante sob o ponto de vista agropecuário da Região Nordeste, estendendo-se ainda para dentro da parte norte da Região Sudeste do Brasil, isto é, os vales dos rios Jequitinhonha, Mucuri e Doce (nordeste de Minas Gerais e norte do Espírito Santo). Os principais termos populares pelos quais a planta é conhecida são “tingui” e também “timbó”. Mas esses termos devem ser usados com certo cuidado, pois são empregados comumente para designar plantas ictiotóxicas ou ainda, num sentido mais amplo, para planta tóxica ou suspeita de envenenar gado. Na Bahia, a planta é conhecida ainda pelos nomes populares “quebra-bucho” e “pela-bucho”; nos vales dos rios Jequitinhonha e Mucuri (Minas Gerais) é conhecida pelos termos “salsa-rosa” e “rama-amarela”, e no vale do rio Doce (Minas Gerais e Espírito Santo), pelos nomes “suma-branca” e “suma-roxa”.

Sob condições naturais, a intoxicação por *M. rigida* ocorre em bovinos (Tokarnia et al. 1961), mas tem sido notificada também para caprinos (Oliveira et al. 1978). Experimentos com a planta, em que ela foi administrada por via oral, foram realizados em bovinos (Tokarnia et al. 1961, Santos 1975, Tokarnia & Figueiredo 1979, Tokarnia et al. 1982) e em caprinos (Paraguassu 1983). Não há trabalhos experimentais com *M. rigida* em animais de laboratório. O presente estudo foi realizado para verificar se o coelho é sensível à intoxicação por *M. rigida*, quando administrada por via oral (intragástrica, por sonda), sob forma dessecada. Esses conhecimentos são necessários para a continuação dos estudos sobre a ação tóxica da planta, bem como na verificação de seus princípios tóxicos.

MATERIAL E MÉTODOS

As folhas e os frutos de *Mascagnia rigida* (Juss.) Griseb., colhidos no Município de Colatina, no vale do Rio Doce, Espírito Santo (ES), em junho de 1984, foram, separadamente, dessecados, inicialmente à sombra em temperatura ambiente, em seguida, em estufa a 40-45° C durante 2 a 3 dias, triturados em moinho Wiley com malha 60 e finalmente conservados em vidros hermeticamente fechados com tampa de plástico, à sombra e em temperatura ambiente.

As folhas assim preparadas foram administradas, no período de 19.9.84 a 20.6.85, a 14 coelhos, em doses únicas previamente determinadas (2 a 4 g/kg da planta dessecada, sendo a relação planta verde: planta dessecada igual a 3:1) por meio de funil de separação adaptado a uma sonda gástrica, conforme técnica descrita anteriormente (Döbereiner et al. 1976).

Os frutos, preparados da mesma maneira, foram administrados, no período de 20.9.84 a 27.6.85 a 10 coelhos, também em doses únicas previamente determinadas (0.06125 a 2 g/kg dos frutos dessecados) através da mesma técnica.

Cada coelho era mantido em gaiola individual e, após a administração da planta, era observado continuamente durante as 10 horas seguintes e, após esse período, com intervalos. 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); fragmentos de fígado e rim de todos os coelhos, após corte de congelamento, foram tratados pelo Sudan III.

RESULTADOS

Os principais dados sobre os experimentos com *Mascagnia rigida* realizados em coelhos constam dos Quadros 1 e 2.

Em relação aos experimentos com as *folhas*, verifica-se que todos os 7 coelhos que as receberam na dose de 4 g/kg, morreram enquanto dos 7 que as receberam na dose de 2 g/kg, nenhum morreu. A hora do início dos sintomas pôde ser verificada em 5 dos 7 coelhos que morreram. Nesses 5 coelhos os sintomas começaram entre 5h 47min e 11h 35min, e nos outros 2 (Coelhos 807 e 837), entre 10h 25min e 11h 40min após o início da administração da planta. A evolução do quadro clínico nos 5 coelhos em que os sintomas foram vistos foi de 1 a 2 minutos. Os principais sintomas de intoxicação pelas folhas de *M. rigida* observados foram os de “morte súbita”: 2 coelhos (740, 799), de repente, começaram a pular violenta e desordenadamente dentro da gaiola, caíram logo em seguida em decúbito lateral, apresentaram respiração difícil e morreram. Dos outros 3 coelhos, um (Coelho 818) perdeu o equilíbrio e caiu em decúbito lateral, e os outros 2 (Coelhos 829, 836), lentamente foram-se deitando de lado, até ficar em decúbito lateral; todos três fizeram movimentos de pedalagem, tiveram respiração difícil e morreram. Dois desses coelhos (829, 836) aproximadamente uma hora e meia antes desses sintomas, apresentaram sonolência. Os achados de necropsia mais importantes nos 7 coelhos foram, no fígado, em 6 deles, lobulação perceptível, e em 4, congestão; em 2 coelhos havia congestão pulmonar (Coelhos 818, 829). Os exames histopatológicos (Quadro 3) revelaram, nos 7 coelhos, em ordem de frequência, como órgãos mais afetados, o fígado, os rins e o coração. No fígado havia necrose de hepatócitos na zona intermediária do lóbulo, manifestada por citoplasma mais eosinófilo e núcleos em picnose e cariorrexia ou mesmo ausentes, necrose essa de intensidade moderada a acentuada, em 2 coelhos (836, 837), no último afetando também a região centrolobular, vacuolização do citoplasma de hepatócitos, com localizações as mais diversas, em 5 coelhos (Sudan III em um deles totalmente positivo, em outro parcialmente positivo e nos 3 restantes inteiramente negativo), tumefação dos hepatócitos com citoplasma granular, com localizações diversas, em 4 coelhos, congestão em 3 coelhos, dissociação dos cordões hepáticos em 5 coelhos, e edema dos espaços de Disse em 1 coelho. No rim foi verificada degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos uriníferos contornados distais em 5 coelhos, degeneração albuminosa-granular das células epiteliais nos túbulos uriníferos na cortical e especialmente na junção córtico-medular em 3 coelhos e esteatose sob forma de gotículas nas células epiteliais de túbulos uriníferos da medular em 4 coelhos. No coração foi observado afastamento entre as fibras cardíacas em 1, aumento da eosinofilia de grupos de fibras cardíacas em 4 e infiltrados inflamatórios não purulentos em 1 coelho.

Em relação aos experimentos com os *frutos*, verifica-se que morreram todos os 3 coelhos que os receberam nas doses de 0,5 e 2 g/kg, 3 dos 4 que os receberam na dose de 0,25 g/kg, 1 dos 2 que os receberam na dose de 0,125 g/kg; o que os recebeu na dose de 0,6125 g/kg não adoeceu. A hora do início dos sintomas pôde ser verificada em 5 dos 7 coelhos que morreram. Nesses 5 os sintomas começaram entre 1h 15min e 28h 13min, e nos outros 2 (Coelhos 800, 809), entre 12h 35min e 24 horas após o começo da administração dos frutos. A evolução do quadro clínico nos 5 coelhos em que os sintomas foram vistos foi de 1 a 4 minutos. Os principais sintomas de intoxicação pelos frutos de *M. rigida* foram também os de “morte súbita”. Dos 5 coelhos, 4, de repente, começaram a pular violenta e desordenadamente dentro

Quadro 1. Experimentos em coelhos com as folhas dessecadas de *Mascagnia rigida*, coletadas em 14.6.84 no município de Colatina, Espírito Santo

Coelho		Planta administrada			Sintomas				Achados de necropsia
Nº (mat. reg. SAP)	Peso g	Data da administração	Quantidade g	Dose g/kg	Início após começo da administração da planta	Evolução	Morte após começo da administração da planta	Manifestações	
740 (23371)	3840	19.9.84	7,68	4	7h 39'	1 min.	7h 40'	Pulou violenta e desordenadamente na gaiola, caiu em decúbito lateral, fez fortes movimentos de pedalagem, teve respiração ofegante, deu 1 grito forte e morreu	Fígado com desenho lobular perceptível
794	3200	9.11.84	6,4	2	—	—	—	Sem sintomas	—
799 (23374)	2480	20.9.84	4,96	4	7h 34'	1 min.	7h 35'	Pulou violenta e desordenadamente na gaiola, caiu em decúbito lateral, teve respiração forçada e morreu	Fígado com desenho lobular perceptível
803	2840	8.11.84	5,68	2	—	—	—	Sem sintomas	—
804	3540	1.2.85	7,08	2	—	—	—	Sem sintomas	—
806	3340	9.11.84	6,68	2	—	—	—	Sem sintomas	—
807 (23442)	3680	18.1.85	14,72	4	11h 10'	?	± 11h 35'	Encontrado morto	Fígado com congestão acentuada
818 (23479)	2800	19.4.85	11,2	4	5h 47'	2 min.	5h 49'	Perdeu o equilíbrio e caiu em decúbito lateral, fez movimentos de pedalagem leves, teve respiração ofegante, e morreu	Fígado com lobulação perceptível e congestão leve; pulmão com congestão leve
829 (23513)	3320	6.6.85	13,28	4	8h 53'	2 min.	8h 55'	Deitou-se lentamente de lado, fez leves movimentos de pedalagem, deu uns 3 gritos, respiração espaçada, e morreu.	Fígado com lobulação perceptível e congestão leve; pulmão com congestão leve
830	2660	6.6.85	5,32	2	—	—	—	1h 24min antes apresentava sonolência; 1h 13 min antes mostrou leves tremores da cabeça	—
836 (23518)	2740	13.6.85	10,96	4	11h 35'	1 min.	11h 36'	Sem sintomas	—
								Lentamente deitou de lado e morreu. 1h 49 min antes apresentava sonolência com o focinho encostado no chão, com a cabeça levemente inclinada	Fígado com lobulação perceptível e congestão acentuada; baço com congestão moderada
837 (23522)	2700	13.6.85	10,8	4	10h 25'	?	± 11h 40'	Encontrado morto	Fígado com lobulação perceptível e congestão acentuada; baço com congestão moderada
841	2650	20.6.85	5,3	2	—	—	—	Sem sintomas	—
842	2790	20.6.85	5,6	2	—	—	—	Sem sintomas	—

Quadro 2. Experimentos em coelhos com os frutos dessecados de *Mascagnia rigida*, colhidos em 16.6.84 no município de Colatina, Espírito Santo

Coelho		Planta administrada			Sintomas				
Nº (mat. reg. SAP)	Peso g	Data da administração	Quantidade g	Dose g/kg	Início após começo da administração da planta	Evolução	Morte após começo da administração da planta	Manifestações	Achados de necropsia
793 (23372)	3330	20.9.84	6,66	2	1h 15'	1	1h 16'	Pulou violentamente na gaiola, caiu em decúbito dorsal, teve respiração espaçada e ofegante e morreu	Sem alterações
800 (23396)	2380	1.11.84	0,6	0,25	> 12h 35'	?	± 21h	Encontrado morto	Sem alterações
801	2950	8.11.84	0,37	0,125	—	—	—	Sem sintomas	—
805	2720	9.11.84	0,68	0,25	—	—	—	Sem sintomas	—
809 (23480)	2920	19.11.84	0,73	0,25	> 12h 45'	?	± 24h	Encontrado morto	Fígado e pulmão com congestão leve
811 (23451)	2980	1.2.85	1,49	0,5	9h 20'	1 min.	9h 21'	Pulou violentamente na gaiola, caiu em decúbito lateral, deu vários gritos fortes, teve respiração forçada, e morreu	Fígado com lobulação perceptível e congestão acentuada
843 (23527)	2730	20.6.85	1,35	0,5	25h 38'	3 min.	25h 41'	De repente mostrou fortes tremores generalizados, assumindo decúbito lateral; deu 3 gritos e morreu	Fígado com lobulação perceptível
844 (23529)	2820	20.6.85	0,7	0,25	28h 13'	4 min.	28 h 17'	De repente pulou violentamente na gaiola, caiu em decúbito dorsal, respiração ofegante, deu 1 grito e morreu	Fígado com lobulação perceptível; pulmão com congestão moderada
845	2770	4.7.85	0,17	0,06125	—	—	—	Sem sintomas	—
848 (23532)	2820	27.6.85	0,35	0,125	24h 09'	2 min.	24h 11'	De repente começou a pular violenta e desordenadamente na gaiola, caiu em decúbito lateral, teve respiração ofegante e espaçada, deu 4 gritos, fez leves movimentos de pedalagem e morreu	Fígado com lobulação perceptível; pulmão com congestão acentuada

Quadro 3. Achados histopatológicos na intoxicação experimental por *Mascagnia rigida* em coelhos

Coelho	Fígado							Rim					Coração				
	Nº (mat. reg. SAP)	Necrose (citoplasma mais eosinó- filo, núcleos com figuras de picnose e cariorrexia)	Vacuolização do citoplas- ma dos hepatócitos	Hepatócitos tumefeitos com citoplasma granular	Congestão	Disso- ciação dos cordões hepáticos	Atrofia compres- siva dos cordões hepáticos	Edema dos espaços de Disse	Degeneração hidrópico- vacuolar das células epiteliais dos túbulos contornados distais (Sudan III neg.)	Degeneração albuminosa granular		Esteatose, sempre sob forma de gotículas finas, das células epiteliais dos túbulos uriníferos			Afasta- mento entre fibras	Aumen- to da eosinofilia de fibras	Infiltra- dos infla- matórios linfocí- tários
										Cortical	Junção córtico- medular	Cortical	Junção córtico- medular	Medular			
Intoxicação experimental pelas folhas																	
740 (23371)	-		Pa+++b,c I++++c	-	-	C+	-	-	+	++	++	-	-	+	-	+	-
799 (23374)	-		C+++c I+(+)c C+c	+	-	-	-	-	+(+)	-	-	-	-	-	-	+	+
807 (23442)	I(+)		-	-	I+ C+	C+	C(+)	(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	-
818 (23479)	-		-	+ difuso	-	C+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
829 (23513)	-		P+(+)d	I+ C+	-	I+ C+	-	-	-	+	++	-	-	++	-	-	-
836 (23518)	I++		P+c	-	I+	C+(+)	-	C+	+	+	++	-	-	(+)	+	+	-
837 (23522)	I+++ C++(+)		P+c I+(+)d C+d	-	I+ C+	-	-	-	+(+)	-	-	-	-	+	-	+(+)	-
Intoxicação experimental pelos frutos																	
793 (23372)	-		P+d I+d C+d	+ difuso	-	-	-	-	-	+	++	-	-	-	-	-	-
800 (23396)	-		-	-	C+	-	-	-	++	-	-	-	-	+	-	-	-
809	-		-	+ difuso	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-
811 (23451)	-		I+++c P+d	-	-	I+++ C+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
843 (23527)	-		I+d P+c	s	-	-	-	-	(+)	+	+	-	-	+	-	-	-
844 (23529)	I++		I+d	++ difuso	-	-	-	-	++(+)	+	+	-	-	-	-	-	-
848 (23532)	-		-	++ difuso	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-

a P = periferilobular, I = zona intermediária do lóbulo, C = centrolobular;

b +++ Lesão acentuada, ++ moderada, + leve, (+) meio grau;

c Sudan III negativo;

d Sudan III positivo.

a gaiola, caíam logo em seguida em decúbito lateral, tiveram respiração difícil, espaçada, 3 deram gritos, e morreram. O quinto coelho, de repente, mostrou fortes tremores generalizados, assumindo o decúbito lateral, deu 3 gritos e morreu. Os achados de necropsia mais freqüentes nos 7 coelhos que morreram foram no fígado, que em 4 tinha a lobulação perceptível, e em 2, congestão; em 3 coelhos havia congestão pulmonar. Os exames histopatológicos (Quadro 3) revelaram, como órgãos mais afetados, o fígado e os rins. No fígado havia necrose de hepatócitos na zona intermediária do lóbulo, manifestada por citoplasma mais eosinófilo e núcleos com cariorrexia em 1 coelho, vacuolização do citoplasma dos hepatócitos, com localizações diversas, em 4 coelhos (pelo Sudan III em 2 coelhos totalmente positivo, e nos outros 2 parcialmente positivo), tumefação dos hepatócitos com citoplasma granular, de distribuição difusa, em 4 coelhos, congestão em 1 coelho e dissociação dos cordões hepáticos em também 1 coelho. No rim foi verificada degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais em 5 coelhos, degeneração albuminosa-granular das células epiteliais dos túbulos uriníferos na cortical e especialmente na junção córtico-medular em 5 coelhos, e esteatose sob forma de gotículas nas células epiteliais, sobretudo da medular, em 3 coelhos. No coração foi observado afastamento entre as fibras cardíacas em 1 coelho.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Nos experimentos ora relatados, tanto as folhas como os frutos dessecados de *Mascagnia rigida*, administrados a cerca de 3 a 12 meses após sua coleta, demonstraram possuir toxidez para o coelho. O quadro clínico foi o mesmo, tanto para os coelhos que receberam as folhas como para os que receberam os frutos. Esse quadro foi o da síndrome de "morte súbita", observado também nas intoxicações experimentais em coelhos por outras plantas das famílias Malpighiaceae, Bignoniaceae e Rubiaceae (Döbereiner et al. 1986).

Os achados de necropsia e as alterações histopatológicas foram os mesmos para as folhas e os frutos. À necropsia, os achados mais comuns foram vistos no fígado, que tinha a lobulação perceptível e apresentava congestão; menos freqüentemente ha-

via congestão pulmonar. As alterações histopatológicas principais eram no fígado e rim, sob forma de alterações degenerativas e vasculares.

Verificou-se que os frutos de *M. rigida* foram aproximadamente 20 vezes mais tóxicos que as folhas; enquanto que a dose de 0,25 g/kg dos frutos causaram a morte de 3 dos 4 coelhos, e 0,5 g/kg de todos os 2 coelhos, 4 g/kg das folhas causaram a morte de todos os 7 coelhos, e 2 g/kg de nenhum de 7.

Os experimentos realizados mostram que o coelho pode ser usado como animal experimental de pequeno porte na continuação dos estudos sobre a ação tóxica da planta, bem como nos trabalhos de isolamento e identificação de seus princípios ativos.

REFERÊNCIAS

- Döbereiner J., Gava A., Consorte L.B. & Tokarnia C.H. 1986. Intoxicação experimental por *Mascagnia pubiflora* (Malpighiaceae) em coelhos. *Pesq. Vet. Bras.* 6(2):51-57.
- Döbereiner J., Rezende A.M.L. & Tokarnia C.H. 1976. Intoxicação experimental por *Baccharis coridifolia* em coelhos. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.* 11:27-35.
- Oliveira A.C., Oliveira G.C., Paraguassu A.A. & Freire L.M.G.M. 1978. Intoxicação por um "tingui" (*Mascagnia rigida* Griseb.) em caprinos na Bahia. XVI Congr. Bras. Med. Vet., Salvador, Bahia.
- Paraguassu A.A. 1983. Intoxicação experimental por *Mascagnia rigida* Grisebach (Malpighiaceae) em caprinos no Nordeste do Brasil. Tese, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, Rio de Janeiro. 65 p.
- Santos H.L. 1975. Aspectos clínicos, laboratoriais e anátomo-histopatológicos, na intoxicação experimental de bovinos pela *Mascagnia rigida* (Juss.) Gr. Tese, Belo Horizonte. 36 p. (Resumo em Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte, 27(3):398-399, 1975)
- Tokarnia C.H., Canella C.F.C. & Döbereiner J. 1961. Intoxicação por um "tingui" (*Mascagnia rigida* Griseb.) em bovinos no Nordeste do Brasil. *Arqs Inst. Biol. Anim., Rio de J.*, 4:203-215.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J., Couceiro J.E.M. & Silva A.C.C. 1982. Plantas tóxicas para bovinos na zona do agreste de Pernambuco. Apresentado no 1º Congr. Pernambucano Med. Vet., Recife.
- Tokarnia C.H. & Figueiredo L. 1979. Experimentos com *Mascagnia rigida* em bovinos realizados na Bahia. Relatório de Viagem de Estudo, UFRJ/UFBA.

ESPOROS DE *Clostridium botulinum* EM TORNO DE CADÁVERES DECOMPOSTOS DE BOVINOS EM PASTAGENS NO SUL DE GOIÁS¹

AIRES MANOEL DE SOUZA² e JEROME LANGENEGGER³

ABSTRACT.- Souza A.M. & Langenegger J. 1987. [*Clostridium botulinum* spores around decomposed cadavers of bovine victims of botulism in pastures of southern Goiás, Brazil.] Esporos de *Clostridium botulinum* em torno de cadáveres decompostos de bovinos em pastagens no sul de Goiás. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 7(1):17-22. Embrapa-UAPNPSA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851, Brazil.

Clostridium botulinum spore distribution around thirty decomposed bovine cadavers, presumed to be killed by Botulism, was evaluated in fifteen municipalities in southern Goiás (Brazil). Six-hundred-and-thirty soil samples were collected on the site of cadaver decomposition and toward the four cardinal points. Botulin toxin detection from the filtrates of 630 soil cultures was obtained through inoculation of guinea pigs and revealed the presence of 221 cultures (35.07%). The identification of *Clostridium botulinum* types, using the serum neutralization technique in mice, allowed the recognition of toxins of 204 (32.38%) cultures belonging to five types, being 44 of type A (21.57%); 2 of type B (0.98%); 37 of type C (18.14%); 41 of type D (20.10%); 77 of the CD complex (37.74%) and 3 of type G (1.47%). Types E and F were not found. The toxins of 17 (2.69%) cultures could not be identified, conclusively. The distribution of the C, D and CD complex types around the cadavers was characterized by a negative linear regression influenced directly by the cadavers within a radius of 30 meters.

INDEX TERMS: *Clostridium botulinum*, spore, soil, Goiás, Brazil.

SINOPSE.- Foi avaliada a distribuição de esporos de *Clostridium botulinum* em torno de 30 cadáveres decompostos de bovinos, supostamente vítimas de botulismo, de 15 municípios no sul de Goiás. A partir do local em que o cadáver se decompõe e na direção dos quatro pontos cardeais, coletaram-se 630 amostras de solo. A detecção de toxina botulínica dos filtrados das 630 culturas de solo foi obtida pela inoculação em cobaias e revelou a presença em 221 culturas (35,07%). A identificação dos tipos de *Clostridium botulinum*, utilizando-se a técnica de soro-neutralização em camundongos, permitiu reconhecer as toxinas de 204 (32,38%) culturas pertencentes a cinco tipos, sendo 44 do tipo A (21,57%); dois do tipo B (0,98%); 37 do tipo C (18,14%); 41 do tipo D (20,10%) 77 do complexo CD (37,74%) e três do tipo G (1,47%). Os tipos E e F não foram encontrados. As toxinas de 17 (2,69%) culturas não puderam ser identificadas conclusivamente. A distribuição dos tipos C, D e complexo CD em torno dos cadáveres caracterizou-se por uma regressão linear negativa influenciada diretamente pela presença do cadáver até um raio de 30 metros.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Clostridium botulinum*, esporo, solo, Goiás, Brasil.

INTRODUÇÃO

A substituição gradual das pastagens nativas do cerrado da Região Centro-Oeste do Brasil, cujo solo é carente em fósforo, por pastagens cultivadas formadas por gramíneas pouco exigentes e a introdução de bovinos selecionados para rápido desenvolvimento ponderal, desencadearam o aparecimento do botulismo na região a partir de 1977, mais intensamente no sul do Estado de Goiás (Langenegger & Döbereiner 1980). A doença vitimou milhares de animais, principalmente vacas em adiantado estado de gestação ou no início da lactação, face à maior necessidade de fósforo requerida pelas vacas nestas fases da procriação. O bovino adquire instintivamente o curioso hábito de roer ossos de cadáveres para suprir a deficiência de fósforo da alimentação (Figs 1 e 2).

Como não pode ser evitado que a grande maioria dos bovinos vítima do botulismo fosse incinerada ou enterrada, a decomposição destes cadáveres nas pastagens enriqueceram o solo com esporos do *Clostridium botulinum* (Fig. 3). A distribuição dos esporos em volta do cadáver foi auxiliada pela ação de animais carnívoros, principalmente o urubú que, em grande número, se alimentavam do cadáver em decomposição espalhando com os restos deste e com as próprias fezes os esporos.

A presença de esporos de *Cl. botulinum*, tipos C e D, no solo de áreas em que ocorre o botulismo epizootico do bovino foi assinalado por Scheuber (1929), na África do Sul, em amostras de solo colhidas debaixo ou próximo a cadáveres de bovinos em decomposição, vítimas de botulismo. No Brasil, Tokarnia et al. (1970) coletaram 11 amostras de solo de locais em que se decomposaram cadáveres de bovinos supostamente vítimas do botulismo, no Estado do Piauí. Através da cultura demonstraram a pre-

¹ Aceito para publicação em 2 de dezembro de 1986.

Baseado na tese de Mestrado preparada na Embrapa-UAPNPSA e apresentada pelo primeiro autor na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, em 1986.

² Escola de Agronomia e Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Cx. Postal 131, Goiânia, GO 74000.

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

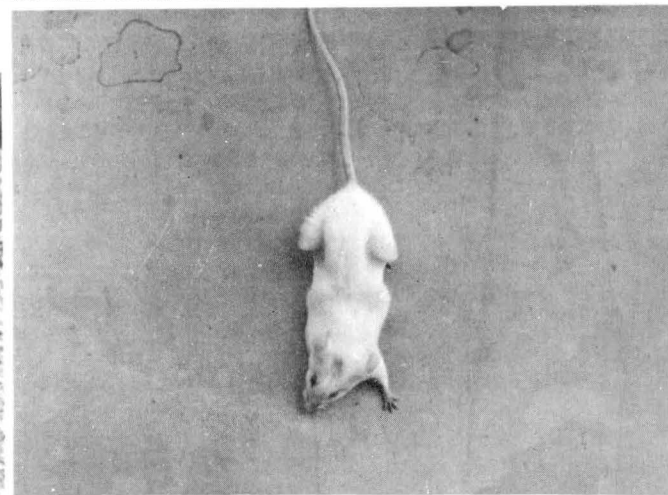


Fig. 1. Bovino procurando pegar osso no local em que se decompôs o cadáver.

Fig. 3. Cadáver de bovino, com solo sem vegetação pelo pisoteio de bovinos e urubús.

Fig. 2. Bovino roendo osso na pastagem de brachiária verde e abundante.

Fig. 4. Camundongo com abdômen cintado e incoordenação motora, caracterizando botulismo.

sença da toxina C e D em 8 amostras. Moreira et al. (1980), no Estado de Goiás, obtiveram toxinas de *Cl. botulinum*, tipos C e D, a partir de culturas de solo proveniente de pastagens do município de Silvania, onde ocorria um surto de botulismo em bovinos. Turnes et al. (1984), em Alegrete, Estado do Rio Grande do Sul, coletando 7 amostras de solo sob restos de carcaça decomposta de bovinos e três amostras de cadáveres putrefatos, comprovaram a presença do esporo de *Cl. botulinum*, tipo D, neste material.

No Brasil, havendo poucas pesquisas sobre a presença de esporos do *Cl. botulinum* no solo, julgou-se oportuno avaliar a distribuição de esporos nesta região epizootica do botulismo em bovinos e determinar a influência da decomposição de cadáveres nas pastagens como meio de poluição do solo pelos tipos C e D de *Cl. botulinum*.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em 630 amostras de solo, colhidas no local e em

torno de 30 cadáveres decompostos na pastagem, em 25 fazendas de 15 municípios do sul do Estado de Goiás (Quadro 1, Fig. 5). Estas amostras foram tomadas, uma no local e outras em torno do cadáver, na direção dos 4 pontos cardiais, nas distâncias de 5, 10, 20, 40 e 80 metros, totalizando 21 amostras. Cada amostra de solo era constituída de cerca de 400 g de terra, colhida numa superfície de cerca de 400cm² e numa profundidade de 2 a 3 cm, usando-se para isto espátulas e coletores, limpos entre uma e outra coleta.

A região tem solo e vegetação característicos do cerrado (Rizzo 1981). O clima é quente e úmido com temperaturas médias variando de 22 a 26°C e precipitação média de 1.500 mm por ano, com cerca de 4 meses de estiagem entre os meses de maio a agosto (Nimer 1977).

Nas pastagens cultivadas predomina a *Brachiaria decumbens*.

Exame bacteriológico

Cada amostra de solo, após homogeneizada, era semeada em aliquotas de 2 gramas em 5 tubos de ensaio 20 x 200 mm contendo 20 ml de meio de Wright (1933). Os tubos recém semeados eram aquecidos em BM a 80°C durante uma hora. Após resfriado, no meio ambiente, seguia a incubação a 30°C durante 5 dias. Por decantação, o conteúdo líquido dos 5 tubos de cultura, semeados com a mesma amostra de solo, era reunido num mesmo

Quadro 1. Distribuição dos cadáveres decompostos dos bovinos, tempo de decomposição e relevo do solo em que foram encontrados

Nº do cadáver	Nome do município	Nome da propriedade	Tempo de decomposição	Tipo do relevo ^a
01	Itajá	Barra ou Salto	2 meses	Plano
02	Itajá	Barra ou Salto	2 meses	Suave ondulado com declive para o norte
03	Aporé	Santa Amélia	1 mês	Plano
04	Aporé	Alto Formoso	3 meses	Plano
05	Piracanjuba	Lambari	2 meses	Ondulado com declive para o norte
06	Piracanjuba	Três Barras	2 meses	Plano
07	Piracanjuba	Boa Vista do Jacaré	2 meses	Ondulado com declive para o sul
08	Piracanjuba	Boa Vista do Jacaré	1 mês	Plano
09	Silvânia	Variado	2 meses	Ondulado com declive para o leste
10	Silvânia	Olho D'Água	2 meses	Ondulado com declive para o sul
11	Orizona	Morro Alto	2 meses	Ondulado com declive para o norte e sul
12	Orizona	Santa Inácia	3 meses	Ondulado com declive para o norte
13	Catalão	Degredo	1 mês	Plano
14	Catalão	Olho D'Água	1 mês	Ondulado com declive para o norte
15	Catalão	Posse	1 mês	Plano
16	Ipamerí	Buriti	4 meses	Ondulado com declive para o norte
17	Pires do Rio	Guará	1 mês	Ondulado com declive para o sul
18	Nova Glória	Cipó	1 mês	Ondulado com declive para o norte
19	Nova Glória	Cipó	1 mês	Plano
20	Nova Glória	Cipó	1 mês	Plano
21	Rubiataba	Bonsucesso	2 meses	Forte ondulado com declive para o leste
22	Serranópolis	Solução	2 meses	Montanhoso com declive para o oeste
23	Serranópolis	Santa Verônica	1 mês	Plano
24	Serranópolis	Santa Verônica	1 mês	Plano
25	Mineiros	Recanto da Fé	2 meses	Ondulado com declive para o leste
26	Jataí	Certeza	2 meses	Ondulado com declive para o leste
27	Jataí	Campo Alto	1 mês	Suave ondulado com declive para o leste
28	Rio Verde	Posto do Chapadão	1 mês	Plano
29	Bela Vista	Barreiro Vermelho	1 mês	Suave ondulado com declive para o sul
30	Bela Vista	Mato do Rio	3 meses	Plano

^a Plano Declives menores que 3%
 Suave ondulado Declives de 3 a 8%
 Ondulado Declives de 8 a 20%
 Forte ondulado Declives de 20 a 45%
 Montanhoso Declives de 45 a 75%

^a NI = Cultura de solo tóxica não identificada.

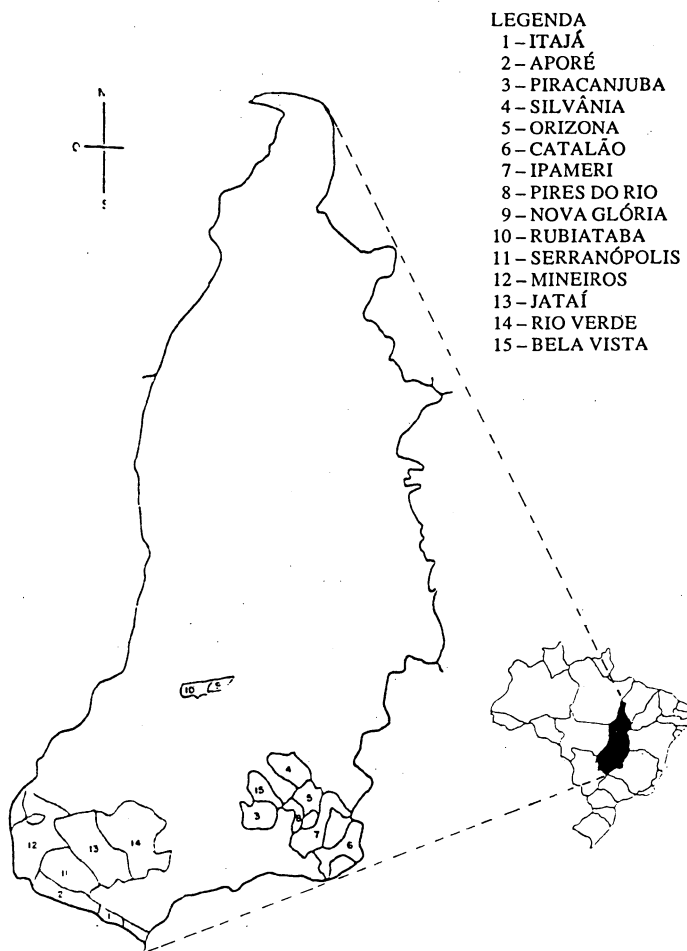


Fig. 5. Localização geográfica dos municípios do Estado de Goiás onde foram coletadas amostras de solo para pesquisa de *Clostridium botulinum* e análises química e física do solo.

frasco e centrifugado durante 10 minutos a 2.000 rpm e depois o sobrenadante foi filtrado em placas esterilizantes Seitz EK. O filtrado assim obtido era mantido refrigerado a 3 a 4°C até o teste de toxicidade em cobaias. Utilizou-se para isto cobaias com peso entre 300 e 400 g, inoculando-se um ml do filtrado puro subcutaneamente em um animal e doses iguais em outro, porém aquecida a 100°C durante 10 minutos. As cobaias eram examinadas

duas vezes por dia, durante 10 dias e registrados os sintomas desde o início até a morte do animal caso adoecesse.

Identificação do tipo de toxina botulínica

Foi utilizada a soro-neutralização "in vitro" seguido da inoculação em camundongo. Os soros anti-toxina botulínica tipos A, B, C, D, E, F e G foram oriundos do Center for Disease Control (CDC), Atlanta, Georgia, USA, fornecidas através do IICA, Brasília.

A adequação da concentração da toxina dos filtrados foi feita segundo Shantz (1964), baseado na relação entre o tempo até a morte dos camundongos e a concentração da toxina botulínica do inóculo. Para isto, foram inoculados dois camundongos, via i.p., com 0,5 ml do filtrado puro das culturas de solo que no teste prévio em cobaias revelara a presença de toxina. Os filtrados que mataram os camundongos entre 1 e 2 horas eram diluídos a 1:1000; entre 2 e 3 eram diluídos 1:5 e quando a morte ocorria após três horas o filtrado foi usado puro para o teste da soro-neutralização.

A técnica da soro-neutralização obedeceu às normas recomendadas pelo CDC. Os soros antibotulínicos foram rehidratados e diluídos com solução glicerínica a 50% em água destilada nos volumes indicados no rótulo de cada frasco. Assim cada 0,5 ml da solução continha uma UI de soro monovalente anti A, B, C, D, E, F e G. Não houve disponibilidade de soro polivalente.

Numa bateria de 8 tubos, identificados com as letras de cada um dos 7 soros anti-botulínicos e mais o tubo testemunho, colocou-se 0,5 ml de cada soro nos tubos; no tubo testemunho igual volume de diluente glicerínico e logo em seguida adicionou-se 1 ml do filtrado da cultura adredeamente adequada em todos os tubos. Após homogeneização rápida foi incubada a 37°C durante 30 minutos. Seguiu-se a inoculação de 2 camundongos, via i.p., com 0,5 ml cada, da mistura soro + filtrado de cada tipo de antitoxina bem como do testemunho. Os 16 camundongos utilizados para cada identificação de toxina foram observados durante 96 horas, registrando-se o aparecimento de sintomas (Fig. 4) e a morte dos animais em protocolo próprio. Os resultados foram submetidos a análise estatística.

RESULTADOS

A cultura das 630 amostras de solo colhidas em 30 locais onde se haviam decomposto cadáveres supostamente vítimas de botulismo, de 25 fazendas e em 15 municípios do sul do Estado de Goiás, revelou a presença de esporos e *Cl. botulinum* em 221 (35,07%) amostras, demonstrado através de toxina botulínica produzida nas culturas e a reprodução do botulismo em cobaias (Quadro 2).

A identificação dos tipos de *Cl. botulinum*, determinada pela soro-neutralização das toxinas permitiu reconhecer as toxinas de 204 (32,38%) culturas (Quadro 3), pertencentes a 5 tipos de *Cl.*

Quadro 4. Tipos de *Clostridium botulinum* identificados do solo, no local e em torno dos 30 cadáveres decompostos

Tipos de <i>Clostridium botulinum</i> isolados	Localização						Total	%
	Central ^a	5 m	10 m	20 m	40 m	80 m		
A	1	2	5	5	15	16	44	21,57
B			1		1		2	0,98
C	1	10	12	7	3	4	37	18,14
D	6	11	10	8	4	2	41	20,10
Complexo CD	8	24	9	12	12	12	77	37,74
E								
F								
G					1	2		1,47
Total	16	47	37	32	36	36	204	
%	25,39	18,65	14,68	12,69	14,28	14,28		

^a Nos cálculos das percentagens das localizações, os dados referentes ao ponto central foram multiplicados por 4, visto que os demais tinham 4 repetições.

botulinum, sendo 44 do tipo A (21,57%); duas do tipo B (0,98%); 37 do tipo C (18,14%); 41 do tipo D (20,10%); 77 do complexo CD (37,74%) e três do tipo G (1,47%). Os tipos E e F não foram encontrados (Quadro 4). As toxinas de 17 (2,69%) culturas não puderam ser identificadas conclusivamente.

Os tipos de *Cl. botulinum*, C, D e o complexo CD, considerados os agentes etiológicos do botulismo epizootico do bovino, foram encontrados em 155 (75,98%) das 204 amostras de solo, enquanto que os tipos A, B e G em apenas 49 (24,02%).

A distribuição dos tipos de *Cl. botulinum* C, D e do complexo CD, no local e em volta dos 30 cadáveres decompostos, nas distâncias de 5, 10, 20, 40 e 80 metros e nas direções dos 4 pontos cardeais, decresceram do centro para a periferia da área pesquisada, nas seguintes frequências: 60⁴ (30,00%) no centro; 45 (22,50%) aos 5 metros; 31 (15,50%) aos 10 metros; 27 (13,50%) aos 20 metros; 19 (9,50%) aos 40 metros e 18 (9,00%) aos 80 metros, caracterizando uma regressão linear negativa, significativa no nível de 1% de probabilidade pelo teste "F" do Snedecor.

A distribuição de esporos de *Cl. botulinum* tipos C, D e do complexo CD no solo, considerando a declividade do local em que os cadáveres se decompuseram, revelou que estes foram encontrados 33 (61,11%) vezes na parte em declive e 21 (38,88%) vez na parte em alicive, não sendo significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Os tipos A, B e G de *Cl. botulinum* foram encontrados em maior número na periferia da área pesquisada, respectivamente 1, 2, 6, 5, 17 e 18 vezes.

DISCUSSÃO

Clostridium botulinum, sob forma de esporos, foi encontrado ubiquitariamente no solo de todas as partes do mundo, e as carcaças decompostas contribuíram ainda mais para a poluição das pastagens. Tal observação foi registrada na literatura por Scheuber (1929) na África do Sul, Tokarnia et al. (1970) no Piauí, Moreira et al. (1980) em Goiás e Turnes et al. (1984) no Rio Grande do Sul onde o botulismo ocorre sob forma epizootica. Nestas pesquisas foram coletadas amostras de solo debaixo ou próximo a cadáveres de bovinos decompostos. Os citados autores não se ocuparam com a abrangência da área que pudesse ser, direta ou indiretamente poluída em função de cada cadáver.

Na presente pesquisa, a distribuição decrescente do achado de esporos de *Cl. botulinum* tipos C, D e do complexo CD, do local da decomposição do cadáver para a periferia, caracterizando uma regressão linear negativa, revelou ainda pelo teste de Tuckey, ao nível de 5% de probabilidade que o cadáver influenciou diretamente a concentração de esporos num raio de 30 metros, ou seja, numa superfície de 2.827m². Entende-se que esta disseminação de esporos de *Cl. botulinum* no solo foi carregada diretamente pelos animais carnívoros, como os urubús, por canídeos, pela chuva, pela declividade da área e, indiretamente, pelo pasto que, ao nascer em local contaminado pelos esporos, provavelmente carreiosos com mais frequência e sendo ingerido por qualquer herbívoro, serão eliminados pelas fezes em outros pontos mais distantes.

A alta prevalência dos tipos C, D e do complexo CD (75,98%) em relação aos demais tipos de *Cl. botulinum* (24,02%) encontrados no sul do Estado de Goiás, além de mostrar a nítida influência do cadáver decomposto na pastagem como agente poluente,

caracteriza ainda o cerrado do Brasil-Central como região epizootica do botulismo bovino, pois simultaneamente em toda região estavam ocorrendo surtos da doença.

Cl. botulinum tipos A e B são mais frequentemente responsáveis pelo botulismo humano (Smith 1977) e nunca foram assinalados em caso de botulismo de bovinos. No Brasil, Leitão e Delazeri (1983) examinaram um total de 115 amostras de solo procedentes de 5 municípios do Estado de São Paulo, sendo 40 de hortas comerciais, 35 de pastagens de equinos e 40 de pastagens de bovinos. Apenas nas culturas das 40 amostras de solo de hortas, os autores demonstraram a presença do *Cl. botulinum* em 14 (35,00%), sendo 57,1% do tipo A, 7,1% do tipo B e F. Na presente pesquisa o *Cl. botulinum* A foi identificado 44 (21,57% do total) vezes ao passo que o tipo B apenas 2 vezes. Curiosamente, houve uma distribuição crescente da frequência de esporos do tipo A no solo do centro para a periferia da área pesquisada, isto é, o contrário do que foi observado com os tipos C, D e complexo CD. A razão disso, presumivelmente está ligada às 17 culturas tóxicas cujos tipos não puderam ser identificados por falta de maior disponibilidade de soros anti-botulínicos. O filtrado destas 17 culturas não foi neutralizado por nenhum dos 7 soros monovalentes da bateria, provavelmente porque estes filtrados continham toxinas de 2 ou mais tipos. Como o tipo A, excluídos os tipos C e D, foi amplamente o mais prevalente, supõe-se que as culturas de solo mais próximas aos cadáveres decompostos facilmente poderiam ser mistas e além dos tipos C, D e complexo CD, conterem o tipo A.

REFERÊNCIAS

- Langenegger J. & Döbereiner J. 1980. Fatores predisponentes dos surtos de botulismo no cerrado de Goiás. Anais 17^o Congr. Bras. Med. Vet., Fortaleza, p. 16.
- Leitão M.F.F. & Delazeri I. 1983. *Clostridium botulinum* em solo no Estado de São Paulo. Bolm ITAL, Campinas, 13:75-82.
- Moreira E.C., Lima J.D. & Leite R.C. 1980. Botulismo no sul de Goiás e Marajó. Anais 17^o Congr. Bras. Med. Vet., Fortaleza, p. 24. (Resumo)
- Nimer E. 1977. Clima. In: Região Centro-Oeste Brasileira. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro.
- Rizzo J.A. 1981. Flora do Estado de Goiás. Ed. Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 35p.
- Schantz E.J. 1964. Purification and characterization of *C. botulinum* toxins. Botulism, proceeding of a symposium. Lewis K.H. and Cassel Jr., K. (ed.) U.S. Department of Health Education and Welfare.
- Scheuber J.R. 1929. A note on investigations into the distribution of the lambsiekte organism (*C. paratubulinum* C type). Ann. Rept. Dir. Vet., South Africa, 15:223-226.
- Smith L.D. 1977. The occurrence of *Clostridium botulinum* and *Clostridium tetani* in the soil of the United States. Health Lab. Sci., Washington, 15(2):74-80.
- Tokarnia C.A., Langenegger J., Langenegger C.H. & Carvalho E.B. 1970. Botulismo em bovinos no Piauí, Brasil. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet., 5:465-472.
- Turnes C.G., Langenegger J. & Scarsi R.M. 1984. "Mal de Alegrete", evidências de *Clostridium botulinum* D como agente etiológico. Anais 19^o Congr. Bras. Med. Vet., Belém, p. 138.
- Wright H.D. 1933. The importance of adequate reduction of peptons in the preparation of media for pneumococcus and other organism. J. Path. Bact., Edinburgh, 37:257.

⁴Foi multiplicado por 4.

ISOLAMENTO DE *Campylobacter* sp. DE BEZERROS COM E SEM DIARRÉIA¹

JOSÉ RAFAEL MODOLO², W. BISPING³ e K. KIRPAL³

ABSTRACT.- Modolo J.R., Bisping W. & Kirpal K. 1986. [Isolation of *Campylobacter* sp. in calves with and without diarrhea.] Isolamento de *Campylobacter* sp. de bezerros com e sem diarreia. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 7(1):23-25. Inst. f. Mikrobiologie u. Tierseuchen, Tierärztl. Hochschule Hannover, Bischofsholer Damm 15, D-3000 Hannover 1, W.-Germany.

The intestinal contents of 220 samples from rectum, colon and ileum of calves with and without diarrhea, were examined, obtaining *Campylobacter* sp. qualitatively and quantitatively in 33.7% of calves with diarrhea or enteritis and up to 10⁸ *Campylobacter* sp. per gram of feces; and in 38.3% calves without these enteropathies and up to 10⁴ *Campylobacter* sp. per gram of feces. The clinical significance of the microorganism as pathogenic agent of intestinal diseases is discussed.

INDEX TERMS: *Campylobacter* sp., calf, diarrhoea, enteritis.

SINOPSE.- Foram examinados 220 amostras de conteúdo intestinal do reto, colo e fêo de bezerros com e sem diarreia, encontrando-se *Campylobacter* sp. qualitativamente e quantitativamente, em 33,7% de bezerros com diarreia ou enterite e até 10⁸ *Campylobacter* sp. por grama de fezes; e em 38,3% bezerros sem estas enteropatias e até 10⁴ *Campylobacter* sp. por grama de fezes. O significado deste microrganismo como agente enteropatogênico em animais com e sem estas afecções intestinais é discutido.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Campylobacter* sp., bezerros, diarreia, enterite.

INTRODUÇÃO

Aceita-se hoje, como certo, o significado da ação patogênica de microrganismos do gênero *Campylobacter* como causador de diarreias por vezes fatais em seres humanos, sendo ainda esse agente apontado como causador de uma das mais importantes zoonoses (Blaser 1980, Behrens et al. 1983), e o comprometimento intestinal que acomete os bezerros causa altos prejuízos à economia pecuária.

Aproximadamente 54% das necropsias em bezerros realizadas na Universidade de Hannover, República Federal da Alemanha, correspondem ao quadro de enterite (Taoudi et al. 1983). Pesquisas mais recentes têm apontado *Campylobacter* sp. como um dos principais agentes causadores de diarreia em bezerros (Al-Mashat & Taylor 1980a, 1980b, Taylor 1982, Al-Mashat & Taylor 1983, Scottisch Veterinary Service 1983, 1984).

No presente trabalho foi pesquisado *Campylobacter* sp. qualitativa e quantitativamente de conteúdo intestinal de bezerros

diarréicos e daqueles sem diarreia, anotando-se qual o significado da presença desse microrganismo em bovinos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram examinados 220 amostras de fezes colhidas do reto, fêo e colo de bezerros com e sem comprometimento intestinal.

As fezes do reto foram coletadas de bezerros ainda vivos e confinados em diferentes locais ao redor da cidade de Hannover e o conteúdo intestinal de seções do fêo e do colo dos mesmos animais, durante as necropsias realizadas no Instituto de Patologia Veterinária durante o período de dois anos. Em ambas as colheitas houve preocupação em saber se os animais haviam recebido alguma medicação tipo antibiótico quando de quadro diarréico; ou acometido de outra afecção. Os materiais foram examinados no máximo 12 horas após as colheitas.

Para a determinação qualitativa do agente, as fezes originadas do reto, fêo e colo foram semeadas diretamente em ágar-sangue com suplemento antibiótico de Butzler⁴. A seguir 1 g de material fecal foi suspenso em 9 ml de solução fisiológica, centrifugada e filtrada através de filtros com 0,65 µm de diâmetro. Do filtrado, 5 gotas foram semeadas em placas de tioglicolato.

As determinações quantitativas em 32 amostras de fezes foram feitas em diluições geométricas, utilizando-se o fator 10. De cada diluição foi semeado 0,1 ml sobre meios seletivos de Butzler. As incubações foram feitas em jaras para anaerobiose e com mistura atmosférica de 1800 ml de H₂ e 350 ml de CO₂.

As placas de tioglicolato foram incubadas a 37°C e as seletivas de Butzler a 43°C por 72 horas. Após o período de incubação, todas as colônias suspeitas foram examinadas ao microscópio de contraste de fase e aumento 1000 X. O diagnóstico do agente foi dado através de características morfológicas de vírgula e da movimentação típica de espirilo.

RESULTADOS

Os resultados do isolamento de *Campylobacter* sp. de 220 amostras de fezes encontram-se no Quadro 1. A análise deste Quadro mostra que 75 amostras de fezes originaram-se de bezerros sem diarreia ou enterite e 145 de bezerros com diarreia ou enterite.

Em 45 amostras de fezes do reto de bezerros, sem comprometimento entérico, *Campylobacter* sp. pôde ser isolado de 23 (51%) amostras. Nos 15 bezerros sem diarreia não foi isolado

¹ Aceito para publicação em 8 de dezembro de 1986.

² Disciplina de Defesa Sanitária Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP-Botucatu, 18610 Rubião Junior, São Paulo, Brasil. Bolsista do "Deutscher Akademischer Austauschdienst"-DAAD.

³ Institut f. Mikrobiologie u. Tierseuchen, Tierärztliche Hochschule Hannover, Bischofsholer Damm 15, D-3000 Hannover 1, Rep. Fed. Alemanha.

⁴ Firma OXOID Código SR 85

Quadro 1. Isolamento qualitativo de *Campylobacter* sp. de conteúdo intestinal de bezerros com e sem diarreia (Hannover, 1983-1984)

Conteúdo	Bezerro sem diarreia ou enterite		Bezerro com diarreia ou enterite	
	Nº de amostras	Quant. isolada/%	Nº de amostras	Quant. isolada/%
Reto	45	23/51	57	26/45,6
Íleo	15	0/0	44	7/15,9
Colo	15	0/0	44	8/18,1

Quadro 2. Isolamento quantitativo de *Campylobacter* sp. de conteúdo intestinal de bezerros com e sem diarreia (Hannover 1983-1984)

Conteúdo	Bezerro sem diarreia ou enterite		Bezerro com diarreia ou enterite	
	Nº de amostras	Nº de <i>Campy.</i> /g	Nº de amostras	Nº de <i>Campy.</i> /g
Reto	2	10^2	1	10^2
	8	10^3	3	10^3
	2	10^4	6	10^4
	—	—	2	10^5
	—	—	4	10^6
	—	—	3	10^7
Íleo	—	—	1	10^8
	—	—	1	10^3
	—	—	2	10^4
	—	—	3	10^5
Colo	—	—	1	10^7
	—	—	1	10^2
	—	—	1	10^3
	—	—	3	10^4
	—	—	2	10^5
	—	—	1	10^6

Campylobacter sp. nem no íleo e nem no colo. Nas 57 amostras de fezes retal de bezerros com enterite, *Campylobacter* sp. pôde ser isolado em 26 (45,6%) amostras; em 44 amostras do intestino delgado e grosso, 7 (15,9%) vezes do íleo e 8 (18,1%) vezes do colo. Em resumo, como o conteúdo intestinal do íleo e do colo originaram-se do mesmo animal, *Campylobacter* sp. foi isolado em bezerros clinicamente sem diarreia ou enterite em 38,3% dos casos, e com diarreia ou enterite, em 33,7% dos casos.

Quanto ao aspecto quantitativo foram analisadas 12 amostras do reto de bezerros sem comprometimento entérico e 20 com diarreia ou enterite, além de 7 amostras do íleo e 8 do colo. Os resultados obtidos estão representados no Quadro 2.

Do total de amostras de fezes com resultado positivo para *Campylobacter* sp., 13 amostras que se originaram de bezerros sem diarreia, não puderam ser quantitativamente pesquisadas, pois com o congelamento e o descongelamento das amostras, *Campylobacter* sp. não pôde ser mais isolado.

A concentração de *Campylobacter* sp. nas amostras restantes dos bezerros sem enterite situou-se entre 10^2 e 10^4 , *Campylobacter* sp./g de fezes. Para os doentes entéricos do reto, íleo e colo, *Campylobacter* sp. situou-se entre 10^2 e 10^8 *Campylobacter* sp./g de fezes.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

No total, foram examinadas 220 amostras de fezes de conteúdo intestinal e correspondendo ao reto, íleo e colo, sendo 75 amostras de bezerros sem e 145 amostras de bezerros com diarreia ou enterite. Respectivamente *Campylobacter* sp. foi isolado nessas amostras em 30,7% contra 28,3%.

Originando-se as secções intestinal do íleo e colo do mesmo animal concluímos que, no período definido deste trabalho, a porcentagem de isolamento qualitativo de *Campylobacter* sp. de bezerros diarreicos foi inferior ao isolamento dos não diarreicos, de 33,7% e 38,3%, respectivamente (Quadro 1), enquanto que a quantidade de *Campylobacter* sp. nas fezes de bezerros com essas afecções é superior a dos animais sem essas enteropatias (10^2 a 10^8 C./g de fezes de bezerros com e 10^2 a 10^4 C./g de fezes de bezerros sem diarreia — Quadro 2). Dos animais do experimento, 41 receberam antibiótico, sendo 36 (35,6%) com e 5 (8,3%) sem diarreia ou enterite. Na análise dos resultados alguns fatores devem ser considerados. O uso desses medicamentos deve, provavelmente, ter influenciado o isolamento do agente, podendo o fato explicar a baixa porcentagem de isolamento nos animais diarreicos contra os não diarreicos. Outro fator a considerar foi o tempo entre a morte do animal, a colheita e o processamento laboratorial. As fezes do reto foram processadas no máximo 5 horas após a colheita e foi possível isolar o agente de amostras com pequeno número de *Campylobacter* sp./g de fezes.

O processamento das amostras dos animais necropsiados, ao contrário, demorou até 12 horas após a morte. Provavelmente *Campylobacter* sp. só pôde ser isolado de casos com um grande número de *Campylobacter* sp. nas fezes. Isto pode explicar porque a porcentagem do isolamento de *Campylobacter* sp. em amostras frescas provenientes de animais com e sem diarreia foi maior que nas análises feitas em animais necropsiados. O mesmo fenômeno deve ter ocorrido com amostras do íleo e colo de animais com essas afecções intestinais.

Isolaram-se *Campylobacter* sp. de conteúdo intestinal de bezerros clinicamente sadios (Florente 1959, Gill & Harris 1982, Weber et al. 1984). Em algumas de nossas amostras, *Campylobacter* sp. pôde ser isolado do íleo e colo de bezerros com enterite, mas não de bezerros sem enterite ou diarreia. O não isolamento de *Campylobacter* sp. do íleo e colo de bezerros sem diarreia ou enterite não contradiz as afirmações dos autores acima, pois acreditamos que o tratamento com antibiótico, o tempo entre a morte, a colheita e o processamento laboratorial devem ter influenciado seu isolamento. Provavelmente ainda por esses motivos o achado do agente no íleo e colo de animais com enterite deve ser ainda sensivelmente superior.

Taylor (1982), infectou bezerros com *C. jejuni* e esses animais após 48 horas apresentaram inflamação da mucosa entérica e aparecimento dos primeiros sintomas clínicos. Também em infecção experimental de bezerros com *C. fecalis*, esses apresentaram aumento dos linfonodos mesentéricos, abomasite, bem como espessamento e hiperemia da mucosa do íleo. Os achados anátomo-patológicos de bezerros infectados com *C. fetus* ssp. *intestinalis* no jejuno, íleo, ceco e colo foram semelhantes aos causados por *C. fetus* ssp. *jejuni* (Al-Mashat & Taylor 1983).

McCordell et al. (1983), com auxílio da imunoperoxidase demonstraram a presença de *C. jejuni* no interior das células epiteliais da lâmina própria do trato intestinal. Em 1983 e 1984 o Scottish Veterinary Investigation Service revelou ser *C. jejuni* o único agente isolado de bezerros com diarreia, e em alguns casos associado ao coronavírus.

Em nossos experimentos, o isolamento quantitativo de *Campylobacter* sp. do conteúdo intestinal de bezerros com enterite situou-se entre 10^2 e 10^8 *Campy.*/g de fezes, enquanto que nos bezerros sem enterite o isolamento quantitativo foi bem inferior. Nossos resultados permitem afirmar que o processamento de *Campylobacter* sp. em fezes frescas deve ser o mais rápido possível, não ultrapassando 6 horas. Os animais sem diarreia ou enterite, de onde foi isolado o agente, podem funcionar como portadores inaparentes e como fonte de contaminação para outros animais e para o homem. *Campylobacter* sp. pode também ser visto como um agente patogênico oportunista e causador de diarreia ou enterite.

REFERÊNCIAS

- Al-Mashat R.R. & Taylor D.J. 1980a. *Campylobacter* ssp. in enteric lesions in cattle. Vet. Rec. 107:31-34.
- Al-Mashat R.R. & Taylor D.J. 1980b. Production of diarrhoea and dysentery in experimental calves by feeding pure cultures of *Campylobacter fetus* subspecies *jejuni*. Vet. Rec. 107:459-464.
- Al-Mashat R.R. & Taylor D.J. 1983. Production of enteritis in calves by oral inoculation of pure cultures of *Campylobacter fetus* subspecies *intestinalis*. Vet. Rec. 112:54-58.
- Behrens R., Kist M. & Helwig H. 1983. *Campylobacter*infektion bei Kindern. Immun. Infekt. 11:55-60.
- Blaser M., Laforce F.M., Wilson N.A. & Wang, W.L.L. 1980. Reservoirs for human *Campylobacteriosis*. J. Infect. Dis. 141:665-669.
- Florent A. 1959. La Vibriose due à *V. fetus venerealis* et la Vibriose d'origine intestinale due à *V. fetus intestinalis*. Meded. Veeartsenijschr. Rijksuniv. Gent 3:1.
- Gill C.O. & Harris L.M. 1982. Contamination of red-meat carcasses by *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*. Appl. Environ. Microbiol. 43:977-980.
- McCordell B.A., Madden J.M., Bier S.W., Leet E.C. & Dallas H.L. 1983. Evidence for multiple pathogenic mechanisms in infections with *Campylobacter* ssp. In: A.D. Pearson, M.B. Skirrow, B. Rowe, J.R. Davies & D.M. Jones (Ed.) *Campylobacter* II Phls, London, p. 128.
- Scottish Veterinary Investigation Service 1983. Enteric and respiratory diseases in cattle widespread. Vet. Rec. 25:597.
- Scottish Veterinary Investigation Service 1984. Respiratory disease common. Vet. Rec. 28:79.
- Taoudi A., Meyer C. & Amtsberg G. 1983. Untersuchungen zum derzeitigen Vorkommen von bakteriellen Infektionserregern im Sektionsmaterial von Kälbern. Prakt. Tierarzt 64:221-226.
- Taylor D.J. 1982. Natural and experimental enteric infections with catalase-positive *Campylobacter* in cattle and pigs, p. 163-167. In: D.G. Newell (Ed.) *Campylobacter: Epidemiology, Pathogenesis and Biochemistry*. MTP Press, Lancaster.
- Weber A., Bergmann I. & Bauer K. 1984. Nachweis von *Campylobacter jejuni* in Kotproben von Kälbern mit und ohne Enteritiden. Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. 97:10-13.