

ISSN 0100-736X

Volume 3 Número 2

Abr/Jun 1983

# 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. Como complemento traz resumos de trabalhos de ciências veterinárias publicados, recentemente no Brasil. 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. **Editores Adjuntos:** Severo Sales de Barros, Osmane Hipólito, Jerome Langenegger, Hugo Barbosa de Rezende, Adair Mafuz Saliba, Jefferson Andrade dos Santos, Carlos Hubinger Tokarnia.

#### **Assessoria Científica (Advisory Board)**

Carlos Cypriano P. Arteche, Eduardo H. Birgel, Hans Blobel, Pedro Gonçalves Cabral, A.F. Pestana de Castro, Milton de Souza Dayrell, Gerrit Dirksen, Laerte Grisi, Eberhard Grunert, Jorge Almeida Guimarães, Gerhard Habermehl, Ernesto Hofer, Michael R. Honer, Mario Mariano, Anton Mayr, Francisco Megale, Hans Merkt, Gonzalo E. Moya, Ronaldo Reis, Carlos H. Romero, Ivan B. Machado Sampaio, Hermann G. Schatzmayr, L.-C1. Schulz.

---

O Colégio Brasileiro de Patologia Animal, inicialmente, está recebendo um auxílio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) para editar a revista que, gradativamente, deve tornar-se financeiramente independente através de publicidade e assinaturas.

Interessados na colocação de anúncios na revista queiram se dirigir à firma Armando Amorim Publicidade, Av. Presidente Vargas 590, grupos 2105/06/14, Rio de Janeiro, RJ 20074 (tel.: 263-1024 e 263-1923).  
Diretoria: Armando M. Amorim. Supervisão: Almir Tardin.

Aos interessados em receber a revista solicitamos preencher o cupom de assinatura inserido neste exemplar, seguindo as instruções contidas no mesmo (*For subscription complete the form enclosed in this issue and follow instructions*).

A correspondência referente à publicação de trabalhos e a outros assuntos técnicos-científicos editoriais deve ser endereçada ao (*All editorial communications, including typescripts, should be addressed to*): Dr. Jürgen Döbereiner, Unidade de Pesquisa de Patologia Animal, Embrapa, Km 47, 23460 Seropédica, Rio de Janeiro (Brazil).

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

Figura da capa: Acentuada atrofia dos cornetos nasais de leitão, na rinite atrofica dos suínos (Brito et. al., Rinite atrofica dos suínos: efeito da vacinação contra *Bordetella bronchiseptica* em leitões desafiados nos primeiros dias de vida, p. 41).

# 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 3

Abril/Junho 1983

Número 2

## SUMÁRIO

Polioencefalomalácia em bovinos no Rio Grande do Sul. <i>M. N. Santos, J. O. Jardim Filho &amp; F. A. Grandó</i> . . . . .	37-39
Atrophic rhinitis of swine: effect of vaccination against <i>Bordetella bronchiseptica</i> in piglets challenged at an early age. [Rinite atrófica dos suínos: efeito da vacinação contra <i>Bordetella bronchiseptica</i> em leitões desafiados nos primeiros dias de vida.] <i>J. R. F. Brito, M.A.V.P. Brito, N. Mores &amp; I.A. Piffer</i> . . . . .	41-44
Intoxicação experimental por <i>Vernonia squarrosa</i> (Compositae) em ovinos e bovinos. <i>C.H. Tokarnia &amp; J. Döbereiner</i> . . . . .	45-52
Polimorfismo da transferrina sérica em bovinos da raça Canchim. <i>J. Bortolozzi</i> . . . . .	53-57
Intoxicação por <i>Claviceps paspali</i> em bovinos no Rio Grande do Sul. <i>F. Riet-Correa, A.L. Schild, M.C. Méndez, A.S. Tavares &amp; J.O. Rodrigues</i> . . . . .	59-65
Histological investigations of the periodontal disease "cara inchada" in cattle. [Estudos histológicos da doença periodontária "cara inchada" dos bovinos.] <i>K. Seifert, P. Walter, J. Döbereiner &amp; I. Rüsse</i> . . . . .	67-70
Resumos 19-37 . . . . .	71-74

## CONTENTS

Polioencephalomalacia in cattle in Rio Grande do Sul, Brazil. <i>M.N. Santos, J.O. Jardim Filho &amp; F.A. Grandó</i> . . . . .	37-39
Atrophic rhinitis of swine: effect of vaccination against <i>Bordetella bronchiseptica</i> in piglets challenged at an early age. <i>J.R.F. Brito, M.A.V.P. Brito, N. Mores &amp; I.A. Piffer</i> . . . . .	41-44
Experimental poisoning of sheep and cattle by <i>Vernonia squarrosa</i> (Compositae). <i>C.H. Tokarnia &amp; J. Döbereiner</i> . . . . .	45-52
Transferrin polymorphism in Canchim cattle. <i>J. Bortolozzi</i> . . . . .	53-57
Intoxication by <i>Claviceps paspali</i> in cattle in Southern Brazil. <i>F. Riet-Correa, A.L. Schild, M.C. Méndez, A.S. Tavares &amp; J.O. Rodrigues</i> . . . . .	59-65
Histological investigations of the periodontal disease "cara inchada" in cattle. <i>K. Seifert, P. Walter, J. Döbereiner &amp; I. Rüsse</i> . . . . .	67-70
Abstracts of current Brazilian veterinary science literature (in Portuguese) . . . . .	71-74

ISSN 0100-736X

Pesq. Vet. Bras., Rio de Janeiro, v. 3, n. 2, p. 37-74, abr./jun. 1983

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)

**35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, Belém, Pará, 6-13.7.1983**  
(Comissão Executiva Central da 35ª Reunião Anual, Secretaria Geral da SBPC, Caixa Postal 11008, São Paulo, SP 01000, fones 211-0495 e 212-0740)

**9º Congresso Latino-Americano de Microbiologia,**  
**12º Congresso Brasileiro de Microbiologia, São Paulo, SP, 25-29.7.1983**  
(Contatos: Prof. Sebastião Timo Iaria, Instituto de Ciências Biomédicas da USP, Cidade Universitária, 05508 São Paulo, SP)

**V Congresso Mundial de Produção Animal, Tóquio, Japão, 14-19.8.1983**  
(Contato: Dr. K. Kallay, Corso Trieste, 00198 Roma, Itália)

**XX Conferência da Associação Mundial para o Progresso da Parasitologia Veterinária, Perth, Austrália, 18-20.8.1983.**  
(Contato: Dr. J.D. Dunsmore, School of Veterinary Studies, Murdoch University, Murdoch, WA 6150, Austrália)

**XXII Congresso Mundial de Veterinária, Perth, Austrália, 21-26.8.1983**  
(Secretaria: Dr. I.F. Fairnie, 28 Charles Street, South Perth, Western Australia 6151, Austrália)

**VIII Congresso Latino-Americano de Avicultura, Balneário Camboriu, SC, 12-15.10.1983**

(Secretaria: Associação Catarinense de Avicultura, Rua Osmar Cunha 15, bloco A, sala 815, Caixa Postal 895, Florianópolis, SC 88000)

**VI Jornada Latino-Americana de Buiatria,**

**II Congresso Brasileiro de Buiatria, Salvador, Bahia, 24-28.10.1983**

Serão apresentados e debatidos tópicos em relação a Produção, Alimentação, Manejo, Higiene, Defesa Sanitária, Aspectos Econômicos, Comercialização, Clínica Médica ligados a bovinos, caprinos e ovinos.

Os principais temas que integram a programação do evento são os seguintes:

1. Situação atual da leucose bovina nos países latino-americanos;
2. Exploração de bubalinos na América-Latina;
3. Pecuária caprina e ovina e seu desenvolvimento na América-Latina;
4. Enfoque atual das afecções mais frequentes dos bovinos na América-Latina;
5. Diagnóstico laboratorial e métodos de combate;
6. Atuação médico-veterinário na saúde pública;
7. Plantas tóxicas – ocorrências e conseqüências na criação de bovinos nos países latino-americanos;
8. Desenvolvimento da pecuária bovina brasileira e suas inter-relações com a pecuária bovina latino-americana;
9. Uniformização de procedimentos e métodos de defesa sanitária na América-Latina;
10. Apresentação de trabalhos.

(Informações: Conselho Regional de Medicina Veterinária – CRMV 10, Praça da Sé 5. Ed. Themis, sala 116, Salvador, BA 40000, fones (071) 235-4776, 235-6553 e 242-9235. Presidente do conclave: José Alberto da Silva Lira)

**II Simpósio Catarinense de Sanidade Suína, Concórdia, Santa Catarina, 22-25.11.1983**

(Secretaria: Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves, Embrapa, Caixa Postal D-3, Concórdia, SC 89700, fone (0499) 440122)

**13º Congresso Mundial de Buiatria (Doenças dos Bovinos e Ovinos) e Programa Satélite para Pequenos Animais, Johannesburg, África do Sul, 17-21.9.1984**

(Informações: South African Airways - Sr. Sílvia Carlos Croce, Av. São Luiz 112, 11º and., cj. 1101, fone: 257-2914, São Paulo, SP 01046)

## 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 literature.)

### DOENÇAS INFECCIOSAS

19. Pavez M.M., Diaz Filho F., Veiga L., Garcia C.S. & Remigio C.V. 1981. **Inquérito sobre anemia infecciosa equina no Estado de Goiás, Brasil.** [Survey on equine infectious anemia in the State of Goiás, Brazil.] *Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte*, 33(3): 437-447. Univ. Fed. Minas Gerais, Cx. Postal 567, Belo Horizonte, MG 30000.

Um estudo de prevalência de Anemia Infecciosa Equina (AIE) em 13 MRH do Estado de Goiás, realizado entre os anos de 1975 e 1976, revela índice de rebanhos afetados de 20%  $\pm$  2 e uma prevalência de reagentes à prova de Coggins de 12%  $\pm$  1. Detectou-se um grande foco desta enfermidade nas regiões noroeste e centro-oeste do Estado, com valores que oscilam entre 10% e 63%, com uma média, nas duas regiões, de 29%, contra 1% encontrado no Sul do Estado, o que confirma o regionalismo da enfermidade de acordo com as características ecológicas da região. O problema detectado manifestou-se recentemente já que não existem diferenças entre as taxas dos diferentes grupos etários estudados. Encontraram-se diferenças significativas nos animais da raça "Campolina" presentes na amostra. Embora as percentagens positivas, em animais com um estado fisiológico-nutricional (aparência) regular ou mau, sejam maiores, também se observou uma taxa apreciável de animais com boa ou excelente aparência. Elevada percentagem de criadores aplica medicamentos com a mesma agulha em todos os animais.

20. Pavez M.M., Anselmo F.P. & Ponte Z.F. 1981. **Prevalência de reagentes ao antígeno VIA em bovinos do Território Federal de Roraima, Brasil.** [Prevalence of bovine sera positive to the anti VIA in the Federal Territory of Roraima, Brazil.] *Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte*, 33(3): 455-466. Univ. Fed. Minas Gerais, Cx. Postal 567, Belo Horizonte, MG 30000.

Um estudo sorológico para determinar a prevalência de reagentes ao antígeno VIA realizado entre os meses de maio e junho de 1978, em rebanhos de 150 propriedades no Território Federal de Roraima, Brasil, revela a presença de animais com anti-corpos anti VIA, em cerca de 41%  $\pm$  4 das propriedades estudadas, determinando-se uma prevalência de 10%  $\pm$  1 nos animais examinados. As mais elevadas taxas de prevalência e o maior número de rebanhos infectados foram encontrados no grupo II, com 13% $\pm$ 2 e 58% $\pm$ 7, respectivamente. Nos grupos I e III, a prevalência foi de 8% $\pm$ 1, enquanto as taxas de rebanhos com animais positivos alcançaram valores de 32% $\pm$ 6 e 38% $\pm$ 7, respectivamente. A taxa de infecção pelo vírus da aftosa, nos últimos 12 meses, foi pelo menos de 3%, considerando-se exclusivamente a quantidade de animais

positivos encontrados na faixa etária de 4 a 12 meses de idade. A prevalência de reagentes ao antígeno VIA e a sua distribuição geográfica indicam que a febre aftosa está amplamente difundida no Território Federal de Roraima.

21. Côrtes V.A. & Oliveira M.C.G. 1981. **Teste de córnea e exame do humor aquoso no diagnóstico da raiva natural em cães.** [Corneal test and examination of the aqueous humor in the diagnosis of natural rabies in dogs.] *Arqs Inst. Biol., S. Paulo*, 48(1/4): 71-73. Lab. Divisão de Controle de Zoonoses, PMSP, Rua Santa Eulália 86, São Paulo, SP 02031.

O teste de córnea foi comparado ao exame do humor aquoso por inoculação em camundongos para o diagnóstico da raiva natural em 30 cães. Os dois testes foram positivos em 66,66% dos casos estudados e negativos em 3,33% deles. Nos demais pares de amostras, os resultados foram positivos apenas em um, 13,33% e somente no outro teste, 16,66%. Em relação ao total de resultados positivos, o teste de córnea (80%) foi comparável ao exame do humor aquoso por inoculação em camundongos (83,33%). A associação dos dois métodos aumentou a taxa de positividade do diagnóstico para 96,66%.

22. Côrtes V.A. & Oliveira M.C.G. 1981. **Diagnóstico da raiva em cães a partir da saliva por imunofluorescência direta.** [Direct immunofluorescence rabies diagnosis from dog saliva samples.] *Arqs Inst. Biol., S. Paulo*, 48(1/4): 79-81. Lab. Divisão de Controle de Zoonoses, PMSP, Rua Santa Eulália 86, São Paulo, SP 02031.

Um total de 30 amostras de saliva obtidas de 30 cães raiosos foi examinado para o diagnóstico da raiva por imunofluorescência direta. A identificação de estruturas corpusculares e puntiformes fluorescentes em 134 (55,83%) das 240 impressões examinadas foi satisfatória para concluir o diagnóstico em 29 (96,66%) dos 30 cães estudados. Uma amostra negativa por imunofluorescência direta (3,33%) e positiva por inoculação em camundongo sugere o uso associado das duas técnicas para o exame da saliva. A possibilidade para o diagnóstico precoce da raiva foi observada na maioria dos casos.

23. Pustiglione Netto L., Kotait I. & Angeli A.B. 1981. **Estudo da persistência do anticorpo anti-VIA em touros doadores de sêmen, vacinados sistematicamente contra a febre aftosa.** [Study of the persistence of antibody anti-VIA in sperm donor bulls, vaccinated systematically against foot-and-mouth disease.] *Arqs Inst. Biol., S. Paulo*, 48 (1/4): 83-85. Div. Patol. Animal Especial, Inst. Biológico, Av. Cons. Rodrigues Alves 1252, Cx. Postal 7119, São Paulo, SP 01000.

Estudaram-se a persistência de anticorpos anti-VIA em soros de touros doadores de sêmen, de centrais de inseminação que eram vacinados sistematicamente contra a febre aftosa, com vacina comercial. A vacina utilizada foi sempre inativada pelo AE (acetil etileneimina) e era aplicada a cada 90 dias, na dose de 10 ml. Durante o experimento, foram realizadas 12 revacinações e não ocorreu aftosa na região, em um raio de 20 km. Os soros dos 26 touros estudados foram classificados em três categorias:

- a) soros positivos durante todo o experimento (36 meses);
- b) soros negativos durante todo o experimento;
- c) soros positivos ou negativos no período estudado.

Assim, 23,08% foram sempre positivos, 61,54% sempre negativos e 15,38% com resultados alternados. A constatação da positividade durante 36 meses sugere que a persistência do anticorpo anti-VIA possa ser maior que a indicada na literatura. Os resultados obtidos indicam que as revacinações podem aumentar a persistência, mesmo quando a vacina é inativada com AEI. O número elevado de negativos contraria a observação de vários pesquisadores de que sucessivas revacinações induzem à formação de anti-VIA na maioria dos animais.

24. Ikuno A.A., Mueller S.B.K. & Machado J.S. 1982. **Levantamento sorológico da prevalência da rinotraqueíte infecciosa/vulvovaginite pustular infecciosa (IBR/IPV) em uma amostragem de bovinos de leite no Estado de São Paulo.** [Serological survey the prevalence of infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis (IBR/IPV) in a sample of dairy cattle of São Paulo State.] *Revta Bras. Med. Vet.* 5(3): 34-38. Seção de Virologia Animal, Inst. Biológico, Cx. Postal 7119, São Paulo, SP 01000.

A análise dos resultados mostra que o índice de anticorpos contra a rinotraqueíte infecciosa dos bovinos/vulvovaginite pustular infecciosa (IBR/IPV), em uma amostragem de diferentes faixas etárias de bovinos de leite, é muito elevado e que, utilizando-se a técnica de micro-hemaglutinação passiva (MHP), foi encontrada uma média final de 92,70% de animais reagentes à esta virose em gado leiteiro no Estado de São Paulo.

25. Viana F.C., Silva J.A., Moreira E.C. & Rebelo R.M. 1981. **Avaliação de testes sorológicos no diagnóstico de brucelose bovina crônica.** [Evaluation of serological tests in the diagnosis of chronic brucellosis in cattle.] *Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte*, 33(2): 277-285. Depto Med. Vet. Preventiva, Univ. Fed. Minas Gerais, Cx. Postal 567, Belo Horizonte, MG 30000.

Em um rebanho bovino brucélico, cronicamente infectado, foram aplicados os seguintes testes sorológicos: soro-aglutinação rápida (SAR), teste do cartão (TC) e prova do anel do leite-método das diluições seriadas (PAL). Em soros colhidos em julho de 1977 e repetidos em janeiro de 1978, foi verificada concordância de títulos em 53% dos casos à SAR e 91,8% ao TC (Exper. I). Dentre seis bezerras de um a oito meses, filhas de vacas reagentes à SAR e ao TC, apenas uma

foi positiva ao TC. Entretanto, seis meses após, apresentava-se negativa a esse teste (Exper. 2). A prova do anel do leite (PAL), nas diluições  $\leq 1:8$  e  $\geq 1:16$ , correspondeu a títulos 1:100 à SAR em 42% e 60% dos casos, respectivamente (Exper. 3). A PAL foi positiva em apenas uma de oito vacas em início de lactação (três a 20 dias); esse animal era positivo ao TC e possuía título 1:100 à SAR. Entre dez vacas em final de lactação (dez meses), cinco reagiram à PAL (1:4 a 1:64). Esses animais eram, também, positivos ao TC e apresentavam títulos 1:50 à SAR.

26. Viana F.C., Reis R. & Santos W. L. M. 1981. **Inquérito sorológico para brucelose eqüina em Minas Gerais.** [Serological investigation of equine brucellosis in Minas Gerais State, Brazil.] *Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte*, 33(3): 431-435. Univ. Fed. Minas Gerais, Cx. Postal 567, Belo Horizonte, MG 30000.

Com a finalidade de se conhecer a frequência de eqüinos reagentes à soro-aglutinação para brucelose, em nosso meio, foram examinados 810 soros, pela prova de soro-aglutinação rápida e teste do cartão. Os animais, procedentes de vários municípios do Estado de Minas Gerais, foram agrupados segundo a sua origem. Grupo I - 200 animais de sela, participaram da V Exposição Estadual de Animais do Estado de Minas Gerais - Belo Horizonte (1974). Grupo II - 410 eqüídeos provenientes de Matadouros de Minas Gerais. Grupo III - 200 animais de corrida, procedentes do Jockey Club de Minas Gerais. Somente 3 animais, todos do grupo II, apresentaram títulos  $\geq 1:100$  pela soro-aglutinação rápida, o que corresponde à frequência de 0,37%. Ao teste do cartão, apenas dois dos três reagentes anteriormente citados foram positivos (0,24%).

27. Rossini A.J., Zelante F., July J. R. & Oliveira Jr. B.S. 1981. **Micoplasmose bovina: isolamento de *Mycoplasma bovis* de bezerras acometidos de pneumonia.** [Bovine mycoplasmosis: isolation of *Mycoplasma bovis* from feedlot calves.] *Arqs Inst. Biológico, S. Paulo*, 48(1/4): 5-10. Depto Microbiol. Imunol., Inst. Ciênc. Biomédicas USP, Av. Dr. Arnaldo 715, São Paulo, SP 10255.

Analisaram-se um lote de oito bezerras da raça Holandesa preta e branca, pertencentes a um mesmo plantel e criados em sistema de confinamento, que apresentavam um quadro de pneumonia. De quatro deles, foram isolados e caracterizados microrganismos do gênero *Mycoplasma* através do cultivo "in vitro" e estudo da ultra-estrutura eletrônica, sendo uma das espécies identificada como *Mycoplasma bovis* pelo "Mycoplasma Reference Laboratory-Colindale, England".

28. Farinha F.B.N., Bersano J.G., Rodrigues F.M., Genicolo L. & Reiter S.C. 1981. **Meningite em suíno causada por *Streptococcus suis* tipo R.** [Streptococcus suis type R as a cause of swine meningitis.] *Arqs Inst. Biol., S. Paulo*, 48(1/4): 91-95. Seção de Doenças de Suínos, Eqüídeos e Pequenos Mamíferos, Inst. Biológico, Av. Cons. Rodrigues Alves 1252, Cx. Postal 7119, São Paulo, SP 01000.

Foi isolado *Streptococcus suis* tipo R, de Moor, ou tipo II, a partir de cérebro e meninges de suínos, logo após a desmama, que apresentavam sintomatologia nervosa (incoordenação motora, paralisia, movimentos de pedalagem, opistotono e tetania). Inicialmente, a doença se apresentou em três criações do Estado de São Paulo, num espaço de tempo de mais ou menos 60 dias e, posteriormente, um número maior de granjas foram afetadas.

29. Teruya J.M., Santa Rosa C.A., Silva A.S. & Giorgi W. 1981. Pesquisa de aglutininas anti-leptospira em suínos aparentemente sadios abatidos em matadouro. [Survey for leptospirosis in apparently healthy pigs, from serum samples collected at slaughterhouse.] *Arqs Inst. Biol., S. Paulo*, 48 (1/4): 97-99. Seção de Doenças de Bovinos, Ovinos e Caprinos, Inst. Biológico, Av. Cons. Rodrigues Alves 1252, Cx. Postal 7119, São Paulo, SP 01000.

Examinaram-se 500 amostras de soros de suínos aparentemente normais, abatidos em matadouro próximo à cidade de São Paulo. A técnica usada foi a soro-aglutinação microscópica com leitura em campo escuro, tendo-se empregado como antígenos 12 sorotipos de leptospirosas vivas. Encontraram-se 16,2% de soros positivos, com predominância para os sorotipos *pomona*, *wolffi* e *grippotyphosa*. Os títulos variaram de 1/200 a 1/3.200, sendo que nesta última diluição houve apenas um soro positivo para o sorotipo *pomona*. A taxa de positividade e a possibilidade de os animais positivos estarem na condição de reservatório de leptospirosas são também abordadas.

30. Mello P.A., Portugal M.A.S.C., Giorgi W., Ibañez O.C.M. & Macruz R. 1981. Infecção estreptocócica em cobaias (*Cavia cobaya*). [Streptococcal infection in guinea pigs (*Cavia cobaya*).] *Arqs Inst. Biol., S. Paulo*, 48(1/4): 101-107. Centro Panamericano de Febre Aftosa, Cx. Postal 589, ZC-00, Rio de Janeiro, RJ 20000.

Dois surtos de adenite cervical em cobaias (*Cavia cobaya*) ocorreram de forma simultânea nos biotérios do Centro Panamericano de Febre Aftosa, Rio de Janeiro e na Seção de Imunologia do Instituto Biológico de São Paulo. Além do comprometimento dos linfonodos cervicais, várias cobaias também apresentaram lesões oculares com variável grau de intensidade. De ambas epizootias, isolou-se o *S. zooepidemicus*, conforme constatado através de provas bioquímicas e sorológicas. A partir do agente isolado, foi possível a reprodução da doença. A histopatologia permitiu evidenciar processos inflamatórios, comprometendo diversas estruturas do globo ocular com tecido de granulação, infiltração linfocitária e vasos de neoformação. Medidas profiláticas e administração diária de quimioterápico, 5% (p/p) de sulfamildamida na ração, foram eficazes para o controle da enfermidade.

#### DOENÇAS PARASITÁRIAS

31. Costa J.O., Guimarães M.P., Ferreira Neto J.M. & Leite A.C.R. 1981. Helmintos gastrintestinais em ovinos

submetidos a diferentes dietas alimentares e tratamentos antihelmínticos. [Worm burdens in sheep fed on different diets and submitted to antihelmintic treatments.] *Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte*, 22(2): 287-291. Univ. Fed. Minas Gerais, Cx. Postal 567, Belo Horizonte, MG 30000.

Quarenta ovinos mestiços, de ambos os sexos, com 5 a 9 meses de idade, naturalmente infectados por helmintos gastrintestinais, foram distribuídos em quatro grupos A, B, C e D, de 10 animais cada um. Cada grupo foi subdividido em dois subgrupos de 5 animais cada (AI, AV, BI, BV, CI, CV, DI e DV). Os animais dos subgrupos AI, BI, CI e DI foram submetidos a infecção com larvas L<sub>3</sub> de *Haemonchus sp.* e *Trichostrongylus sp.* e os dos subgrupos AV, BI, CV, e DV foram tratados três vezes com antihelmíntico. Cada grupo foi alimentado com A—capim e sal; B—idem A+ microelementos minerais; C—idem B + macroelementos minerais; D—idem C + ração concentrada. A análise de variância das contagens de helmintos entre os subgrupos infectados não evidenciou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos CI e DI, os quais apresentaram diferença em relação aos grupos AI e BI. A carga parasitária do subgrupo BI foi também menor que a do subgrupo AI. Entre os subgrupos vermifugados, as menores cargas parasitárias foram encontradas, respectivamente, nos subgrupos CV, DV e BV e as diferenças entre todos os subgrupos foi estatisticamente significativa. A comparação entre grupos mostrou que houve diferença somente entre os grupos BI x BV e CI x CV, onde os subgrupos BV e CV mostraram menores cargas parasitárias.

32. Lopes C.W.G. & Rezende H.E.B. 1982. Eperitrozoonose em pequenos ruminantes no Estado do Rio de Janeiro. [Eperythrozoonosis in small ruminants in Rio de Janeiro State.] *Revta Bras. Med. Vet.* 5(3): 12-14. Inst. Biologia, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23460.

*Eperythrozoon ovis* foi diagnosticado em ovinos esplenectomizados procedentes do Estado do Rio de Janeiro. Formas cocóides com 0,3 a 1,2 µm de diâmetro foram encontradas em agregados epierythrocytic e livres no soro em esfregaços de sangue de ovinos após a esplenectomia. Quando, sangue positivo para *E. ovis* foi inoculado em 2 ovinos, o período de incubação foi de 4 dias e de 7 dias em caprinos. Os sinais clínicos foram caracterizados por anorexia, debilidade, anemia e edema das extremidades nos ovinos. Entretanto, estes não foram observados nos caprinos acometidos pelo mesmo microrganismo.

33. Freire N.M.S. 1982. Ixodídeos parasitas de bovinos leiteiros na zona fisiográfica do município de Resende, Estado do Rio de Janeiro. [Ixodid ticks of dairy cattle in Resende region, State of Rio de Janeiro.] *Revta Bras. Med. Vet.* 5(3): 18-20. Inst. Biologia, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23460.

Durante 1980/81 na Zona Fisiográfica de Resende, envolvendo onze municípios, examinou-se 3.007 bovinos leiteiros identificando-se 89.720 carrapatos colhidos nestes hospedeiros. Do total dos carrapatos 62,15% eram *Boophilus mi-*

*croplis*, 35,03% eram *Amblyomma cajennense* e 2,82% eram *Anocentor nitens*.

34. Freire N.M.S., Villela W.C. & Massard C.L. 1982. *Eutrombicula (Eutrombicula) batatas L. em Equus caballus*. [Eutrombicula (Eutrombicula) batatas L. in Equus caballus in the Pantanal region of Mato Grosso do Sul.] *Revta Bras. Med. Vet.* 5(3): 39-40. Inst. Biologia, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23460.

É relatado o resultado da inspeção clínica com diagnose laboratorial, pelo exame de lâminas montadas em líquido de Berlese, da trombiculose em eqüinos do município de Miranda, região do pantanal do Estado de Mato Grosso do Sul. Foi encontrado *Eutrombicula (Eutrombicula) batatas L.* com incidência de 75% dentre 40 *Equus caballus* examinados, sem distinção de sexo ou pelagem, com idade variando entre 2 a 18 anos. Zonas alopecicas, pruriginosas, eritematosas e de descamação cutânea foram os principais sintomas e lesões observados, sendo 95% dos casos nos bordos laterais do chanfro e 5% como pequenas colônias distribuídas pelo chanfro, cernelha, lombo e garupa, apresentando macroscopicamente coloração vermelho-alaranjada.

#### PATOLOGIA, CLÍNICA E CIRURGIA

35. Nogueira R.H.G., Reis R., Coelho H.E., Nascimento E.F. & Chquiloff M.A.G. 1981. *Diagnóstico clínico e anátomo-patológico da doença edematosa do suíno em Minas Gerais*. [Clinical and Pathological diagnosis of edema disease of swine in the State of Minas Gerais, Brazil.] *Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte*, 33(2): 217-221. Univ. Fed. Minas Gerais, Cx. Postal 567, Belo Horizonte, MG 30000.

Descreve-se, pela primeira vez, a ocorrência da doença edematosa do suíno no Estado de Minas Gerais. O estudo compreendeu seis surtos da enfermidade em cinco localidades diferentes, acometendo sempre animais jovens (50 a 65 dias de idade). No início, sucedia a morte repentina de alguns animais, apresentando os remanescentes da fase superaguda as seguintes manifestações clínicas: inapetência, diarreia, elevação discreta da temperatura, freqüente edema nas pálpebras e na região frontal, andar cambaleante, tremores musculares e, às vezes, paralisia. O quadro de achados *post mortem* exibiu com certa consistência: edema na curvatura maior do estômago, no cérebro e cerebelo; derrame seroso nas cavidades pericárdica, pleural e peritoneal; dilatação intestinal por acúmulo de gases e excessivo conteúdo branco-amarelado no terço inicial do intestino delgado; palidez da cortical e congestão da medular do rim. O exame histológico revelou: (1) nos intestinos: enterite mucosa aguda; (2) no sistema nervoso central: áreas focais de malacia, hemorragia, degeneração de neurônios, edema e alterações degenerativas da parede dos vasos.

Foi freqüente o isolamento de *Escherichia coli* hemolítica do estômago e duodeno, quase sempre em cultura pura.

36. Nascimento E.F., Maia P.C.C., Chquiloff M.A.G. & Nogueira R.H.G. 1981. *Alterações testiculares e epididimárias em bovino. II. Degeneração testicular e cistos intra-epiteliais no epidídimo*. [Testicular and epididymarian alterations in bulls. II. Testicular degeneration and intra-epithelial cysts of epididymis.] *Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte*, 33(3): 407-412. Setor de Patologia, Univ. Fed. Minas Gerais, Cx. Postal 567, Belo Horizonte, MG 30000.

O estudo anátomo-histopatológico dos testículos e epidídimos de 150 touros revelou 76 (50,7%) casos de alterações degenerativas, sendo 64 (42,7%) de degeneração testicular e 12 (8,0%) de cistos intra-epiteliais no epidídimo. Em virtude de sua elevada freqüência, a degeneração testicular constitui importante fator de depressão da fertilidade em bovinos criados no Estado de Minas Gerais.

37. Amaral R.E.M., Malavolta V.M.A., Ripinskas O. M., Alcântara P.B., Bufarah G., Campos B.E.S. & Oliveira A.A.D. 1981. *Ocorrência do fungo Pithomyces chartarum (Berk. & Curt.) M.B. Ellis, no campo de introdução de forrageiras do Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, São Paulo*. Ocorrência of *Pithomyces chartarum* (Berk. & Curt.) M.B. Ellis, on forage plants grown at the Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, State of São Paulo.] *Arqs Inst. Biológico, S. Paulo*, 48(1/4): 11-18. Seção Micol. Fitopatológica, Inst. Biológico, Av. Cons. Rodrigues Alves 1252, Cx. Postal 7119, São Paulo, SP 01000.

Com o intuito de estimar a ocorrência de esporos e ou colônias do fungo *Pithomyces chartarum* (Berk. & Curt.) M.B. Ellis, em 24 forrageiras tropicais (22 gramíneas e 2 leguminosas), cultivadas no Campo de Introdução de Forrageiras, do Instituto de Zootecnia, em Nova Odessa, SP, foram examinadas, nos laboratórios da Seção de Micologia Fitopatológica, do Instituto Biológico, em São Paulo, as hastes e as folhas basais, medianas e superiores de plantas coletadas quinzenalmente, ao acaso, de canteiros sem pastoreio, durante o período de um ano, 19 de outubro de 1977 a 25 de outubro de 1978. A partir dos dados meteorológicos diários, foram calculadas as médias de temperatura, umidade relativa do ar, velocidade do vento e precipitação pluviométrica total para as quatro estações do ano. Os cálculos das porcentagens e da freqüência acumulada de ocorrência do fungo e as análises estatísticas para o estudo das possíveis fontes de variação dessa ocorrência evidenciaram que, durante todo o ano, as condições climáticas foram favoráveis à esporulação de *P. chartarum* nas 24 forrageiras, que apresentaram comportamento diverso como hospedeiras desse microorganismo, diferença também observada entre aquelas dos grupos de hábito de crescimento cespitoso e reptante, com acentuadas variações nas quatro estações do ano e nas diversas partes da planta.

# POLIOENCEFALOMALÁCIA EM BOVINOS NO RIO GRANDE DO SUL<sup>1</sup>

MURILO NOGUEIRA DOS SANTOS<sup>2</sup>, JOSÉ OSVALDO JARDIM FILHO<sup>3</sup>  
E FIRMINO ANTONIO GRANDO<sup>4</sup>

**ABSTRACT.**- Santos M.N., Jardim Filho J.O. & Grando F.A. 1983. [Polioencephalomalacia in cattle in Rio Grande do Sul, Brazil.] Polioencefalomalácia em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 3(2): 37-39. Depto Patologia, Univ. Fed. Sta Maria, 97100 Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil.

Three cases of spontaneously occurring polioencephalomalacia (cerebrocortical necrosis) of cattle in Rio Grande do Sul, Brazil, are described. The affected animals ranged in age from 8 to 12 months and were from different areas of the State. Clinical findings included anorexia, salivation, incoordination (ataxia), circling, blindness and opisthotonus. Two of the animals died 4 days after the appearance of clinical signs. Lesions in the central nervous system consisted of depressed, asymmetrical, yellow or reddish areas in the cortex of both cerebral hemispheres. Histopathological examination of those areas revealed liquefaction of the gray matter associated with perivascular infiltration of mononuclear cells. Hemorrhagic lesions were observed in one case. One of the affected animals recovered after being treated with thiamine.

**INDEX TERMS:** Polioencephalomalacia, cerebrocortical necrosis, liquefactive necrosis, cattle, pathology.

**SINOPSE.**- É descrita a ocorrência da polioencefalomalácia (necrose córtico-cerebral) em três bovinos do Rio Grande do Sul, Brasil. Os animais, com idades de 8 e 12 meses, procedentes de diferentes regiões do Estado, mostravam inapetência, salivação, incoordenação de movimentos, andar em círculo, cegueira e opistótono. A morte de dois animais ocorreu 4 dias após o início dos sintomas. As lesões do sistema nervoso central consistiam em áreas deprimidas e assimétricas, de cor amarelada ou avermelhada, atingindo o córtex de ambos os hemisférios cerebrais. Estas lesões correspondiam, microscopicamente, a áreas de necrose de liquefação da substância cinzenta do córtex, associadas a infiltrado inflamatório linfocitário e, em um caso, a hemorragia. Um dos animais doentes recuperou-se após o tratamento com tiamina o que encorajou os autores a acreditarem que também na etiologia desses casos, a deficiência desta vitamina esteja envolvida.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Polioencefalomalácia, necrose córtico-cerebral, necrose por liquefação, bovinos, patologia.

## INTRODUÇÃO

A polioencefalomalácia ou necrose córtico-cerebral é uma doença de bovinos, ovinos, eqüinos e suínos que se caracteriza por alterações necróticas da substância cinzenta do cérebro — o córtex e os núcleos basais (Edwin & Lewis 1971).

A doença ocorre principalmente em animais jovens e, nos bovinos e ovinos, manifesta-se por embotamento, ataxia, hiperesstesia, opistótono, trismos, espasmos tônicos, convulsões

e colapso. Andar em círculo e cegueira são sintomas importantes e a morte ocorre entre 2 e 6 dias (Edwin & Lewis 1971, Edwin & Jackman 1973).

A deficiência de tiamina, como causa da doença, foi demonstrada pela baixa da vitamina nos tecidos lesados e pelas alterações bioquímicas do sangue, como a elevação do piruvato e do lactato e a diminuição da atividade da transcetolase dos eritrócitos, que ocorre nos animais doentes (Edwin & Lewis 1971). A carência da vitamina pode ser alimentar, especialmente nos animais jovens (Edwin & Lewis 1971, Loew & Dunlop 1972); pode ser induzida por tiaminase produzida no rume (Edwin et al. 1968, Loew & Dunlop 1972, Edwin & Jackman 1973, Morgan & Lawson 1974), por antimetabólitos (piritiamina e oxitiamina) ou por análogos da tiamina como o Amprolio<sup>5</sup> (Loew & Dunlop 1972, Markson et al. 1972, Morgan 1974, Morgan et al. 1975). Múltiplos casos de polioencefalomalácia foram descritos em ovinos, seguidos à administração dos anti-helmínticos levamisole e tiabendazole (Linklater et al. 1977). Em eqüinos, a deficiência da vitamina pode ser causada pela presença de tiaminase em plantas como *Pteridium aquilinum* (samambaia) e *Equisetum arvense* (rabo-de-cavalo) (Cymbaluk & Loew 1978). Evans et al. (1951), trabalhando com "samambaia", verificaram que eqüinos intoxicados pela planta mostram andar incerto e cambaleante que se acentua à medida que a doença progride, podendo-se observar os membros dos animais nas posições mais inusitadas, como em cruz ou afastados lateralmente. A incoordenação motora aumenta progressivamente e aparecem tremores musculares, culminando com ataques convulsivos na fase final da doença. Os autores não observaram lesões de malácia no cérebro destes animais.

A patogenia da lesão cerebral envolve desde fenômenos mecânicos como deficiência da circulação cerebral, produzida

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 21 de julho de 1982.

<sup>2</sup> Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97100 Santa Maria, Rio Grande do Sul.

<sup>3</sup> Departamento de Clínica de Grandes Animais, UFSM.

<sup>4</sup> Departamento Nacional de Saúde Animal, Ministério da Agricultura, Venâncio Aires 1795, sala 101, Santa Maria, RS 97100.

<sup>5</sup> Amprolio (1-(4 amino-2-n propil-5 pirimidimetil)-2-picolini cloreto hidrocloreto). Merck, Sharp & Dohme Ltda.

pelo intenso edema que chega a rechazar o cerebello para o orifício do occipital (Morgan 1974, Gabbedy & Richards 1977) até importantes fenômenos bioquímicos que levam as células nervosas à morte pelo bloqueio da conversão do piruvato e lactato em acetato e do alfa-cetoglutarato em succinato, reações para as quais é necessário o pirofosfato de tiamina (Cantarow & Schepartz 1967), deficiente na ausência da vitamina.

Neste trabalho faz-se, pela primeira vez no Brasil, o relato da ocorrência espontânea da polioencefalomalácia em bovinos ocorrida no Estado do Rio Grande do Sul.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os animais doentes eram provenientes de diferentes regiões do Estado. Dois bovinos machos com idade de 8 meses, da raça "Polled Hereford", eram do município de Dom Pedrito (Região da Campanha) e um bovino da raça "Devon" com 12 meses, procedia do município de Cachoeira do Sul (Depressão Central); no histórico deste último era relatada a ocorrência de mortes de sete outros animais da mesma propriedade, com os mesmos sintomas, num período de 30 dias.

A sintomatologia da doença consistia em inapetência, salivação intensa, secreção purulenta ocular, incoordenação de movimentos, andar em círculo, cegueira e opistótono na fase final da doença. Dos três bovinos observados, dois morreram, ambos 4 dias após o início dos sintomas. Um dos animais da raça "Polled Hereford", tratado com tiamina recuperou-se. Os dois outros foram necropsiados e o cérebro e fragmentos de tecidos foram colhidos e fixados em formol neutro a 10%. Após clivagem foram incluídos em parafina, cortados em micrótomo e corados pela hematoxilina-eosina, para estudo histológico.

## RESULTADOS

As lesões macroscópicas do cérebro eram semelhantes nos dois animais e constavam de áreas deprimidas, de extensão variável, nas porções ântero-dorsal ou médio-dorsal dos dois hemisférios cerebrais (Fig. 1). Nos cortes transversais destas áreas, o tecido nervoso aparecia com aspecto gelatinoso amarelado em um animal ou gelatinoso avermelhado, noutro. Estas alterações restringiam-se à substância cinzenta do córtex (Fig. 2) e/ou dos núcleos basais. No último caso, o líquido cefalorraquiano estava aumentado e tinha cor avermelhada.

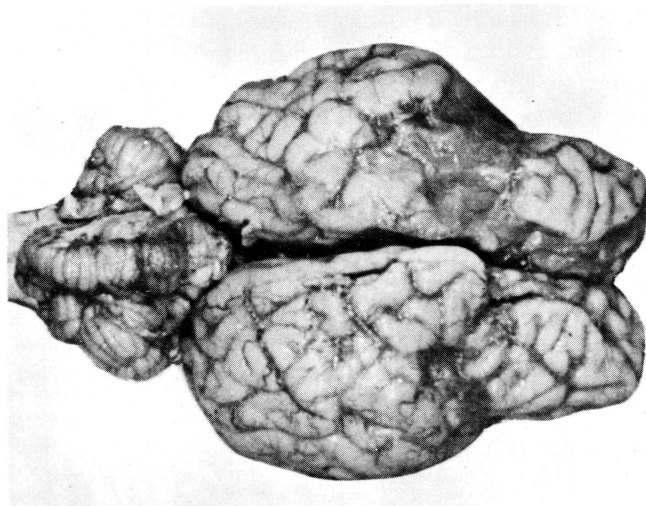


Fig. 1. Encéfalo com polioencefalomalácia, observando-se áreas deprimidas, irregulares e assimétricas nos lobos parietais do cérebro. Bovino Hereford.

As lesões em outros órgãos consistiam em ulcerações recobertas por fibrina, no abomaso e na vesícula biliar, em um animal, e conteúdo intestinal liquefeito no outro.

Microscopicamente, as lesões cerebrais encontradas no bovino "Polled Hereford" constavam de necrose de liquefação do córtex e dos núcleos lenticular e caudato, associada a infiltrado linfocitário perivascular. O abomaso e a vesícula biliar mostravam lesões inflamatórias difteróides.

No animal "Devon", as lesões foram de necrose de liquefação associada a hemorragia e a infiltrado inflamatório linfocitário difuso ou perivascular. O cerebello e meninges também exibiam inflamação e, na medula, a reação inflamatória estava associada a hemorragia.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Com base na sintomatologia e nas lesões do cérebro dos animais, foi feito o diagnóstico de polioencefalomalácia ou necrose córtico-cerebral.

O andar em círculo, a incoordenação e a cegueira são sintomas de distúrbios nervosos, os quais, segundo Edwin e Jackman (1973), são típicos da doença.

A necrose de liquefação observada na substância cinzenta do cérebro — o córtex e os núcleos basais, são lesões observadas em casos espontâneos e experimentais de polioencefalomalácia em bovinos e em ovinos (Edwin et al. 1968, Gabbedy & Richards 1977, Loew & Dunlop 1972, Markson et al. 1972, Edwin & Jackman 1973, Morgan 1974, Morgan et al. 1975). Infiltrados inflamatórios linfocitários associados às lesões necróticas do cérebro são descritas em casos espontâneos e experimentais da doença, mas as hemorragias, observadas no cérebro de um dos animais, só foram relatadas em casos experimentais (Morgan 1974, Morgan et al. 1975).

Acredita-se que a etiologia das lesões do cérebro dos animais aqui apresentados, seja a deficiência de tiamina, embora não tenha sido medida a atividade enzimática da tiaminase ruminal, nem os níveis de tiamina no fígado e no cérebro, como foi feito por Edwin e Jackman (1973) e Morgan e Lawson (1974). Esta hipótese é suportada apenas no fato de que um



Fig. 2. Corte transversal do cérebro com polioencefalomalácia, mostrando áreas de necrose de liquefação (setas) no córtex. Bovino Devon.

dos animais doentes se recuperou após o tratamento com tiamina, o que, para Edwin e Lewis (1971), é eficaz quando a vitamina é administrada, parenteralmente, antes de ocorrerem extensas lesões cerebrais.

Concluiu-se que a doença dos bovinos, descrita neste trabalho, é a polioencefalomalácia pela semelhança de sintomas e de lesões observadas em casos espontâneos e experimentais daquela doença, descritas por outros autores, mas não se conseguiu averiguar a origem da provável tiaminase envolvida na etiologia desses casos.

#### REFERÊNCIAS

- Cantarow A. & Schepartz B. 1967. *Bioquímica*. 4<sup>a</sup> ed. W. B. Saunders, Philadelphia. 914 p.
- Cymbaluk N.F. & Loew F.M. 1978. Amprolium-induced thiamine deficiency in horses: Clinical features. *Am. J. Vet. Res.* 39(2): 255-261.
- Edwin E.E. & Jackman R. 1973. Ruminant thiaminase and tissue thiamine in cerebrocortical necrosis. *Vet. Rec.* 92: 640-641.
- Edwin E.E. & Lewis G. 1971. Reviews of progress of dairy science. Section E. Diseases of dairy cattle. Thiamine deficiency, with particular reference to cerebrocortical necrosis — a review and discussion. *J. Dairy Res.* 38: 79-90.
- Edwin E.E., Spence J.B. & Woods A.J. 1968. Thiaminases and cerebrocortical necrosis. *Vet. Rec.* 83: 417.
- Evans E.T.R., Evans W.C. & Roberts H.E. 1951. Studies on bracken poisoning in the horse. *Brit. Vet. J.* 107(9-10): 1-22. (Separata)
- Gabbedy B.J. & Richards R.B. 1977. Polioencephalomalacia of sheep and cattle. *Aust. Vet. J.* 53: 36-38.
- Linklater K.A., Dyson D.A. & Morgan K.T. 1977. Faecal thiaminase in clinically normal sheep associated with outbreaks of polioencephalomalacia. *Res. Vet. Sci.* 22: 308-312.
- Loew F.M. & Dunlop R.P. 1972. Induction of thiamine inadequacy and polioencephalomalacia in adult sheep with amprolium. *Am. J. Vet. Res.* 33(11): 2195-2205.
- Markson L.M., Gwyneth L.S., Terlecki S., Edwin E.E. & Ford J. 1972. The etiology of cerebrocortical necrosis: The effects of administering antimetabolites of thiamine to preruminant calves. *Brit. Vet. J.* 128: 488-499.
- Morgan K.T. 1974. Amprolium poisoning of preruminant lambs. An ultrastructural study of the cerebral malacia and the nature of inflammatory response. *J. Pathol.* 112: 229-230.
- Morgan K.T., Coop R.L. & Doxey, D.L. 1975. Amprolium poisoning of preruminant lambs: An investigation of the encephalopathy and haemorrhagic and diarrheic syndromes. *J. Pathol.* 116: 73-80.
- Morgan K.T. & Lawson G.H.K. 1974. Thiaminase type 1-producing bacilli and ovine polioencephalomalacia. *Vet. Rec.* 95: 361-363.

# ATROPHIC RHINITIS OF SWINE: EFFECT OF VACCINATION AGAINST *Bordetella bronchiseptica* IN PIGLETS CHALLENGED AT AN EARLY AGE<sup>1</sup>

JOSÉ RENALDI FEITOSA BRITO<sup>2</sup>, MARIA APARECIDA VASCONCELOS PAIVA E BRITO<sup>2</sup>,  
NELSON MORES<sup>2</sup> AND ITAMAR ANTONIO PIFFER<sup>2</sup>

SINOPSE.- Brito J.R.F., Brito M.A.V.P., Mores N. & Piffer I.A. 1983. [Rinite atrófica dos suínos: efeito da vacinação contra *Bordetella bronchiseptica* em leitões desafiados nos primeiros dias de vida.] Atrophic rhinitis of swine: effect of vaccination against *Bordetella bronchiseptica* in piglets challenged at an early age. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 3(2): 41-44. Centro Nac. Pesq. Suínos e Aves, Embrapa, Cx. Postal D-3, Concórdia, SC 89700.

Testou-se a eficiência de uma bacterina preparada com *B. bronchiseptica* e adsorvida a hidróxido de alumínio, na prevenção da rinite atrófica dos suínos. Seis porcas foram vacinadas, aos 60 e 100 dias de gestação, e suas leitegadas, aos sete e 28 dias de idade. Cinco leitegadas não vacinadas, nascidas de porcas não vacinadas, serviram de controle. Todos os leitões foram inoculados com *B. bronchiseptica* aos três, quatro e cinco dias de idade. A vacinação contribuiu para reduzir significativamente os sintomas clínicos da doença ( $P < 0,001$ ) e a ocorrência e gravidade das lesões dos cornetos nasais ( $P < 0,01$ ), mas não eliminou a infecção aos setenta dias de idade.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Rinite atrófica dos suínos, *Bordetella bronchiseptica*, vacinação, imunoprofilaxia.

ABSTRACT.- The effectiveness of a bacterin in the prevention of swine atrophic rhinitis (AR) was tested. The bacterin was prepared with *Bordetella bronchiseptica* and adsorbed to aluminum hydroxide. Six sows were vaccinated at 60 and 100 days of gestation and their litters at seven and 28 days of age. Five sows and their litters were used as an unvaccinated control group. All piglets were challenged with *B. bronchiseptica* at three, four and five days of age. The vaccination significantly reduced the clinical signs ( $P < 0.001$ ), occurrence and severity ( $P < 0.01$ ) of nasal turbinate atrophy, but it did not reduce the rate of infection at 70 days of age.

INDEX TERMS: Swine atrophic rhinitis, *Bordetella bronchiseptica*, vaccination, immunoprophylaxis.

## INTRODUCTION

Atrophic rhinitis (AR) of swine has been reported in almost all major swine producing countries as well as in southern Brazil (Guerreiro et al. 1963, Piffer et al. 1978, Williams & Fallavena 1979). In a survey for AR prevalence in the State of Santa Catarina, Brito et al. (1982) found this disease in 113 (75.3%) out of 150 herds. In addition, *Bordetella bronchiseptica* was isolated from 74 (66.7%) out of 111 herds examined. This agent has been incriminated as the etiological agent of AR (Switzer 1956, Cross & Clafin 1962, Duncan & Ramsey 1965, Shimizu et al. 1971, Fetter et al. 1975).

The strategy of AR control has been to use either sulfonamides (Switzer 1963) or immunoprophylaxis (Harris & Switzer 1972, Nakase et al. 1976, Pedersen & Barfod 1977,

Farrington & Switzer 1979, Goodnow et al. 1979). The utilization of sulfonamides has led to the selection of strains resistant to this group of drugs, thus reducing its therapeutic effect. In the last decade, several reports appeared showing that vaccination against *B. bronchiseptica* resulted in the reduction of clinical signs and the severity of AR lesions (Harris & Switzer 1972, Nakase et al. 1976, Pedersen & Barfod 1977), Farrington & Switzer 1979, Goodnow et al. 1979).

The objective of this work was to determine whether vaccinating sows and their progenies with a bacterin containing *B. bronchiseptica* would be effective in eliminating carriers, producing high antibody titers and protecting challenged piglets from AR.

## MATERIALS AND METHODS

**Animals.** Eleven commercial sows free of *B. bronchiseptica* and their litters were utilized. The sows were considered *B. bronchiseptica* free after three negative bacteriological examinations. Six of these animals and their offsprings were vaccinated, the other five and their litters were kept as unvaccinated controls.

**Bacterin.** Phase I *B. bronchiseptica* strains isolated from diseased pigs were grown in tryptic soy broth (TSB, Difco) with 1% fetal bovine serum. The cultures were incubated at 37°C overnight and standardized to contain  $3 \times 10^{10}$  colony forming units (CFU) per ml. The cultures were inactivated with 0.2% formalin and adsorbed to aluminum hydroxide.

**Vaccination.** Both sows and piglets were vaccinated subcutaneously with 2 ml of the experimental bacterin. Sows were vaccinated in the neck at 60 and 100 days of gestation, and piglets in the fold of the flank at seven and 28 days of age.

**Experimental challenge.** *B. bronchiseptica* for challenge was grown in Bordet-Gengou medium with 15% defibrinated sheep blood, at 37°C for 24 hours. It was harvested in TSB and standardized to contain  $10^9$  CFU/ml. All piglets, vaccinated and unvaccinated, received 0.5 ml of the challenge inoculum which was given through a syringe, in each nostril, at three, four and five days of age.

<sup>1</sup> Accepted for publication on July 30, 1982.

<sup>2</sup> Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves, EMBRAPA, Cx. Postal D-3, Concórdia, Santa Catarina 89700, Brazil.

**Clinical examination and collection of specimens.** All piglets were observed for AR symptoms throughout the six month experimental period and nasal secretions were swab-collected from both nostrils at 70 days of age. Blood for serological testing was collected at 15, 35, 55, 75, 95 and 180 days of age.

**Isolation and identification of *B. bronchiseptica*.** Nasal swabs were streaked on MacConkey agar with 1% glucose. Non-lactose and non-glucose utilizing colonies were selected and subjected to biochemical analysis for *B. bronchiseptica* identification. A simplified biochemical battery comprised of the urease, citrate, nitrate, oxidase, catalase, and glucose oxidation-fermentation tests was used.

**Serum agglutination test.** *B. bronchiseptica* antigen was prepared from the strains used for vaccination, as described by Jenkins (1978) with slight modifications. The microorganisms were cultivated on Bordet-Gengou with 15% defibrinated sheep blood, at 37°C for 24 hours. The cultures were harvested in phosphate buffered saline (PBS, 0.15 M, pH 7.2) and filtered through sterile gauze. Formalin, at a final concentration of 0.2%, was utilized for inactivation. This antigen was kept at 4°C. Before carrying out the test, the antigen was standardized at a transmittance of 60% at a wave-length of 625 nm. Thimerosal was added to a concentration of 1:10,000. Two fold serum dilutions from 1:10 to 1:1280 were made in 0.5 ml volumes of PBS and 0.5 ml of the standardized antigen was added to each dilution. The tubes were incubated in a 42°C water bath for four hours and an additional 48 hours at 4°C. The titer was defined by the highest dilution in which there was total agglutination.

**Post-mortem examination.** Upon reaching market weight (90 – 100 kg), all experimental pigs were slaughtered and the nose of each pig was sectioned at the level of the second premolar tooth (Switzer & Farrington 1975). The nasal turbinate lesions were scored according to Maeda et al. (1969).

**Statistical analysis.** Both treatment groups were compared by the chi-square test in regard to clinical signs, isolation of *B. bronchiseptica* and occurrence and severity of AR lesions. The Student's *t* test was utilized to compare the means of the serological response.

## RESULTS

Sixty two piglets were born to the six vaccinated sows. Six were born dead, 13 were eliminated because of low birth-weight (< 1 kg), crushing or diarrhea, leaving 43 pigs in this group. Fifty piglets were born to the five unvaccinated sows. Two were born dead and 14 were eliminated for the above reasons, leaving 34 pigs in this group. No local or systemic reactions were observed in the vaccinated pigs.

**Clinical signs.** Twenty-four (70.6%) unvaccinated pigs showed symptoms of AR. Among the vaccinated pigs, only 13 (30.2%) showed clinical signs. Both groups differed statistically ( $P < 0.001$ ).

**Bacteriological findings.** *B. bronchiseptica* was isolated from 17 (39.5%) vaccinated and eight (23.5%) unvaccinated pigs. No statistical difference was observed between these groups ( $P > 0.05$ ).

**Titer of serum agglutinating antibodies.** The agglutinating antibody response is summarized in Table 1. A significantly higher ( $P < 0.001$ ) antibody response was observed in the vaccinated pigs from 15 to 55 days of age. No difference were observed from 75 to 180 days of age.

**Turbinate atrophy lesions.** The vaccinated pigs showed significantly less ( $P < 0.01$ ) AR lesions than the unvaccinated ones. The results are summarized in Table 2.

## DISCUSSION

Data obtained in this work showed that the pigs vaccinated against *B. bronchiseptica* had less clinical symptoms and less gross lesions of AR than the unvaccinated ones. Severe lesions were only observed in unvaccinated pigs, indicating that the vaccination scheme utilized reduced the occurrence and severity of AR. However, vaccination did not eliminate the disease, since 32.6% of the vaccinated piglets had slight to moderate turbinate atrophy. The inability of *B. bronchiseptica* vaccination to completely eliminate AR has also been reported by Nakase et al. (1976), Pedersen and Barford (1977), Farrington and Switzer (1979), and Goodnow et al. (1979).

At 70 days of age, the isolation of *B. bronchiseptica* from nasal secretions of vaccinated and unvaccinated pigs did not differ statistically, although there seemed to be a trend for a higher number of isolations from vaccinated piglets. Thus vaccination did not eliminate *B. bronchiseptica* from the nose of challenged pigs. In contrast, Harris and Switzer (1972), Nakase et al. (1976), Brandenburg (1978), and Farrington and Switzer (1979) reported that vaccination reduced the number of infected pigs. Furthermore, Nakase et al. (1976) found that

Table 1. Agglutinating antibody titers in sera from vaccinated and unvaccinated piglets<sup>(a)</sup> after challenge with *Bordetella bronchiseptica*<sup>(b)</sup>

Experimental group	Age of piglets (days)					
	15	35	55	75	95	180
Vaccinated	4.38 ± 0.74 <sup>(c)</sup> (10 – 320) <sup>(d)</sup>	3.51 ± 1.08 <sup>*</sup> (<10 – 160)	4.77 ± 0.80 <sup>*</sup> (20 – 320)	2.97 ± 1.09 <sup>*</sup> (<10 – 80)	2.04 ± 1.45 <sup>*</sup> (<10 – 40)	2.93 ± 0.91 <sup>*</sup> (<10 – 40)
Unvaccinated	1.62 ± 1.28 <sup>**</sup> (<10 – 40)	1.98 ± 1.29 <sup>**</sup> (<10 – 80)	2.69 ± 1.18 <sup>**</sup> (<10 – 160)	2.77 ± 1.18 <sup>*</sup> (<10 – 160)	1.96 ± 1.73 <sup>*</sup> (<10 – 160)	3.59 ± 1.31 <sup>*</sup> (<10 – 160)

(a) Piglets were vaccinated at seven and 28 days of age and were progeny of sows vaccinated at 60 and 100 days of gestation. Unvaccinated piglets were progeny of unvaccinated sows.

(b) All piglets were challenged intranasally through a syringe, with 10<sup>9</sup> CFU of *B. bronchiseptica* at three, four and five days of age.

(c) Log<sub>2</sub> of the mean of antibody titers ± standard deviation. Figures in a column with a different number of asterisks are significantly different at  $P < 0.001$ .

(d) Range of antibody titers.

Table 2. Occurrence and severity of AR lesions in vaccinated and unvaccinated piglets which had been challenged with *Bordetella bronchiseptica*<sup>(a)</sup> at three, four and five days of age

Lesions	Vaccinated		Unvaccinated (Control)	
	Number of pigs	%	Number of pigs	%
Normal	29	67.4	9	26.5
Slight	7	16.3	12	35.3
Mild	4	9.3	5	14.7
Moderate	3	7.0	3	8.8
Severe	0	0.0	5	14.7
Total	43	100.0	34	100.0

(a) See legends in Table 1.

*B. bronchiseptica* recovered from vaccinated pigs were mostly phase II or III which were less pathogenic. In our studies no attempts were made to characterize the strains isolated.

The early higher agglutinating antibody response observed in the vaccinated pigs appears to reflect the effect of vaccination. The antibodies detected in sera of vaccinated piglets may have been from passive or active in origin, but our experimental design did not allow us to identify the source of such antibodies. The low antibody titers obtained after the challenge of unvaccinated pigs and the results of Kemeny (1973) and Brassine et al. (1976) suggest that the serological response observed in vaccinated pigs was not a consequence of challenge, but of vaccination. The first author detected agglutinating serum antibodies in *B. bronchiseptica*-challenged pigs beginning two weeks post inoculations, while Brassine et al. (1976) found them only after 17 days.

These findings are similar to those reported by Harris and Switzer (1972), who found high serum antibody titers in pigs inoculated with sonicated *B. bronchiseptica* and pertussis vaccine. Brandenburg (1978) also reported that vaccinated pigs exhibited markedly high agglutinin titers. Goodnow et al. (1979) found that increased serum titers to *B. bronchiseptica* correlated significantly with a decrease in the extent of AR lesions.

AR control in Brazil has been based on sulfonamide therapy, although recently this procedure has been shown to be ineffective in several herds (Brito et al. 1982). A probable explanation may be the occurrence of strains resistant to these drugs, since during a period of five years (1977-1981) the rate of susceptibility of *B. bronchiseptica* to sulfonamides went from approximately 96.6% to 37.5% (Brito et al. 1982).

The vaccination of sows and their piglets against *B. bronchiseptica* did not eliminate the infection from the challenged offspring, nor did it result in the eradication of AR. Nevertheless, the vaccinated piglets showed significantly less clinical signs and less turbinate atrophy than the unvaccinated ones.

**Acknowledgements.**— The authors acknowledge the contributions of Dr. Alfredo Ribeiro de Freitas, Dr. Carlos Gil Turnes, Dr. Carlos Roberto V.M. Pacheco, Lourenço Balen, Magda Inês Vidor, Neilor Armiliato, Nelso Bourckardt, Salette Stumpf Andruchak and Leivas Leite S.A. - Indústrias Químicas e Biológicas, Pelotas, Rio Grande do Sul.

## REFERENCES

- Brandenburg A.C. 1978. *Bordetella* rhinitis in pigs: serum and nasal antibody response to *Bordetella* bacterins. Can. J. Comp. Med. 42(1): 23-28.
- Brassine M., Dewaele A. & Gouffaux M. 1976. Intranasal infection with *Bordetella bronchiseptica* in gnotobiotic piglets. Res. Vet. Sci. 20(2): 162-166.
- Brito J.R.F., Brito M.A.V.P., Piffer I.A. & Freitas A.R. 1982. Rinite atrófica dos suínos. III. Prevalência da doença e da infecção por *Bordetella bronchiseptica* em suínos de pedigree do Estado de Santa Catarina. Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte, 34(1): 65-75.
- Brito M.A.V.P., Brito J.R.F. & Piffer I.A. 1982. Padrões de sensibilidade a antimicrobianos em amostras de *Bordetella bronchiseptica* isoladas de suínos. Pesq. Agropec. Bras., Brasília, 17(7): 1079-1082.
- Cross R.F. & Clafin R.M. 1962. *Bordetella bronchiseptica* — induced porcine atrophic rhinitis. J. Am. Vet. Med. Ass. 141(12): 1467-1468.
- Duncan J.R. & Ramsey F.K. 1965. Fine structural changes in the porcine nasal ciliated epithelial cell produced by *Bordetella bronchiseptica* rhinitis. Am. J. Pathol. 47(4): 501-512.
- Farrington D.O. & Switzer W.P. 1979. Parenteral vaccination of young swine against *Bordetella bronchiseptica*. Am. J. Vet. Res. 40(10): 1347-1351.
- Fetter A.W., Switzer W.P. & Capen C.C. 1975. Electron microscopic evaluation of bone cells in pigs with experimentally induced *Bordetella* rhinitis (turbinate osteoporosis). Am. J. Vet. Res. 36(1): 15-22.
- Goodnow R.A., Shade F.J. & Switzer W.P. 1979. Efficacy of *Bordetella bronchiseptica* bacterin in controlling enzootic atrophic rhinitis in swine. Am. J. Vet. Res. 40(1): 58-60.
- Guerreiro M.G., Trein E., Warth W. & Antinolfi T. 1963. Rinite atrófica no Rio Grande do Sul. Dipan, Porto Alegre, 15(139): 20-23.
- Harris D.L. & Switzer W.P. 1972. Immunization of pigs against *Bordetella bronchiseptica* infection by parenteral vaccination. Am. J. Vet. Res. 33(10): 1975-1984.
- Jenkins E.M. 1978. An agglutination test for the detection of *Bordetella bronchiseptica* infection in swine. Can. J. Comp. Med. 42(3): 286-292.
- Kemeny L.J. 1973. Agglutinin response of pigs to intranasal infection of *Bordetella bronchiseptica*. Cornell Vet. 63(1): 130-137.
- Maeda M., Inui S. & Konno, S. 1969. Lesions of nasal turbinates in swine atrophic rhinitis. Nat. Inst. Anim. Hlth Quart. 9: 193-202.
- Nakase Y., Kimura M. & Shimoda K. 1976. Efficacy of an inactivated *Bordetella bronchiseptica* vaccine for atrophic rhinitis under field

- conditions. Proc. 4th Int. Pig Vet. Soc. Congr., Ames, Iowa, July, p. 8.
- Pedersen K.B. & Barfod K. 1977. Effect of vaccination of sows with *Bordetella bronchiseptica* on the incidence of atrophic rhinitis in swine. Nord. Vet. Med. 29(9): 369-375.
- Piffer I.A., Ávila L.A.F. & Brito J.R.F. 1978. Rinite atrófica dos suínos: isolamento e identificação de *Bordetella bronchiseptica*. Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte, 30(3): 291-296.
- Shimizu T., Nakagawa M., Shibata S. & Suzuki K. 1971. Atrophic rhinitis produced by intranasal inoculation of *Bordetella bronchiseptica* in hysterectomy produced colostrum-deprived pigs. Cornell Vet. 61(4): 696-705.
- Switzer W.P. 1956. Studies on infectious atrophic rhinitis. V. Concept that several agents cause turbinate atrophy. Am. J. Vet. Res. 17(64): 478-484.
- Switzer W.P. 1963. Elimination of *Bordetella bronchiseptica* from the nasal cavity of swine by sulfonamide therapy. Vet. Med. 58: 571-574.
- Switzer W.P. & Farrington D.O. 1975. Infectious atrophic rhinitis, p. 687-711. In: Dunne H.W. & Leman A.D. (ed.) Diseases of swine. 4th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- Williams H.A. & Fallavena L.C.B. 1979. Estudos sobre rinite atrófica dos suínos no Rio Grande do Sul: ocorrência, classificação das lesões e isolamento de *Bordetella bronchiseptica*. Bolm Inst. Pesq. Vet. Desidério Finamor, Porto Alegre, 6: 7-18.

# INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Vernonia squarrosa* (Compositae) EM OVINOS E BOVINOS<sup>1</sup>

CARLOS HUBINGER TOKARNIA<sup>2</sup> E JÜRGEN DÖBEREINER<sup>3</sup>

**ABSTRACT.**- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1983. [Experimental poisoning of sheep and cattle by *Vernonia squarrosa* (Compositae).] Intoxicação experimental por *Vernonia squarrosa* (Compositae) em ovinos e bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 3(2): 45-52. Depto Nutrição Animal, Univ. Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23460, Brazil.

The plant *Vernonia squarrosa* (Less.) Lessing was shown to be toxic for sheep and cattle. The aerial parts of the fresh plant collected from October to December in Uruguaiiana, Rio Grande do Sul, Brazil, and given to seven sheep and seven bovines, produced similar clinical and pathological pictures in both species caused by its hepatotoxic action. The lethal dose for sheep was 30 grams of the fresh plant per kilogram of bodyweight; 15 g/kg provoked symptoms, but the animals recovered. Cattle showed great individual differences in their susceptibility to the toxic effects of the plant. The largest quantity of plant material which did not cause symptoms was 10 g/kg. The smallest amount needed to cause death was 20 g/kg, although, in one animal, 40 g/kg produced symptoms but not death. In sheep which went on to die, symptoms first appeared between 20h 30 min and 24 hours after ingestion of the plant, the course of the poisoning lasting from 12 to 44 h 20 min. Cattle showed initial symptoms between 22 and 25 hours, which persisted for 7 to 45 hours before the death of the animal. The main symptom in both species was lack of appetite. In cattle, dry feces and swaying gait were also observed. The most important post-mortem finding in both species was the nutmeg-like appearance of the cut surface of the liver. Histopathological studies showed necrobiosis and necrosis of the liver parenchyma, specially in the center of the lobules, where congestion and hemorrhages were also found.

The importance of *Vernonia squarrosa* as a poisonous plant under natural conditions is not known.

**INDEX TERMS:** Poisonous plants, *Vernonia squarrosa*, Compositae, experimental plant poisoning, sheep, cattle, pathology.

**SINOPSE.**- Através da experimentação foi verificado que *Vernonia squarrosa* (Less.) Lessing, da família *Compositae*, é tóxica para ovinos e bovinos. As partes aéreas da planta fresca, recém-coletadas no município de Uruguaiiana, Rio Grande do Sul, durante os meses de outubro a dezembro, e administradas a sete ovinos e sete bovinos, provocaram nas duas espécies quadros clínico-patológicos semelhantes, através de sua ação hepatotóxica. A dose letal para ovinos foi de 30 gramas da planta fresca por quilograma de peso do animal; quantidades de 15 e 19 g/kg causaram sintomas, porém, os animais se recuperaram. Nos bovinos houve apreciável diferença individual de susceptibilidade ao efeito tóxico da planta. A maior dose que não causou quaisquer sintomas foi a de 10 g/kg; a menor que causou a morte do animal foi a de 20 g/kg, e a maior que causou somente sintomas, recuperando-se o animal, foi a de 40 g/kg. Os sintomas, nos experimentos com a planta fresca e que terminaram com a morte dos animais, apareceram, nos ovinos, 20 e meia a 24 horas, e nos bovinos, 22 a 25 horas após a ingestão da plan-

ta, e a evolução da intoxicação nestes casos durou, nos ovinos, de 12 a 44 horas e 20 minutos, e nos bovinos, de 7 a 45 horas. O principal sintoma foi, em ambas as espécies, anorexia; nos bovinos ainda foram observados eliminação de fezes ressequidas e andar cambaleante. A lesão mais importante à necrópsia foi, em ambas as espécies, aspecto de noz-moscada da superfície de corte do fígado; os exames histopatológicos revelaram como principal alteração necrose e necrobiose do parênquima hepático, principalmente centrolobular, acompanhadas de congestão e hemorragias centrolobulares. Pela dessecação a planta perdeu consideravelmente em toxicidade.

É observado que não se sabe ainda qual a importância de *V. squarrosa* como planta tóxica sob condições naturais.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Plantas tóxicas, *Vernonia squarrosa*, *Compositae*, intoxicação por planta, ovinos, bovinos.

## INTRODUÇÃO

Em certas áreas do município de Uruguaiiana, Rio Grande do Sul, verificam-se em ovinos, anualmente, mortandades atribuídas a plantas tóxicas. De acordo com os históricos obtidos, essas mortandades vêm sendo observadas, pelo menos, desde 1963. São afetados animais da região, de todas as idades, e as mortes ocorrem de agosto a novembro. A evolução da doença

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 8 de julho de 1982.

<sup>2</sup> Departamento de Nutrição Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23460; veterinário do Ministério da Agricultura e bolsista do CNPq (1111.5010/76).

<sup>3</sup> Unidade de Pesquisa de Patologia Animal, EMBRAPA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23460.

é aguda e a letalidade é alta. As suspeitas recaíram sobre diversas plantas, principalmente "sálvia brava" e "lixê três". Infelizmente não conseguimos dados sobre sintomatologia, achados de necrópsia e alterações histopatológicas.

O histórico acima indicado realmente aponta para intoxicação por planta. Inspeccionamos os pastos onde têm ocorrido estas mortandades. A única planta tóxica conhecida que se encontrou foi *Baccharis coridifolia* DC. Esta planta, porém, foi eliminada como a possível causa porque as mortes ocorrem em ovinos da região que não a comem (Tokarnia e Döbereiner 1975, 1976); além disso, ela não existe só nas áreas onde ocorrem as mortes, mas em toda a região.

Com o fim de determinar qual a planta responsável pelas mortes, realizamos experimentos em ovinos e, aproveitando a oportunidade, também em bovinos, administrando-lhes as duas plantas acima mencionadas, "sálvia brava" e "lixê três", bem como outras coletadas nos pastos da região onde as mortes ocorrem.

Nestes experimentos, somente uma planta se revelou tóxica, causando a morte dos animais com evolução aguda; essa planta, conhecida na região por "alecrim", foi posteriormente identificada como *Vernonia squarrosa* (Less.) Lessing.

No presente trabalho relatamos os experimentos realizados com *V. squarrosa* em ovinos e em bovinos.

## MATERIAL E MÉTODOS

As partes aéreas frescas recém-coletadas de *Vernonia squarrosa* (Less.) Lessing<sup>4</sup> (Fig. 1 a 3) foram administradas por via oral (colocadas com a mão dentro da boca dos animais) a sete ovinos adultos, em quantidades que variaram a 10 a 40 g/kg, e a sete bovinos jovens, desmamados, com idade de 1 a 2 anos, em quantidades de 10 a 50 g/kg. Os experimentos foram realizados nos meses de outubro a dezembro, sempre com as plantas em brotação e ainda sem floração ou formação de sementes. A planta procedia sempre do mesmo local (Granja Santo Antônio, município de Uruguaiana). Os experimentos foram feitos na Fazenda Experimental da Secretaria de Agricultura em Uruguaiana, Rio Grande do Sul, e na sede do Projeto de Patologia da EMBRAPA, município de Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro.

Material coletado na mesma época foi dessecado e administrado a três outros bovinos jovens, 3 a 11 meses após a coleta.

Os animais experimentais eram observados e examinados antes e durante os experimentos. Nos casos de morte fazia-se a necrópsia, complementada por exames histopatológicos.

<sup>4</sup> Identificação botânica feita pela Dra. Graziela Maciel Barroso, Jardim Botânico do Rio de Janeiro (Mat. bot. Döb./Tok. 1293, RB 176886), que também forneceu a descrição botânica, através do trabalho de Cabrera, A.L. 1944. *Vernonias argentinas* (Compositae). De Darwiniana, San Isidro, B. Aires, 6 (3): 265-379.

*Vernonia squarrosa* (Less.) Lessing.

Subarbusto com xilopódio grosso e caules eretos ramificados na parte superior, densamente folhosos, com cerca de 50 cm de altura. Folhas lineares agudas de margem revoluta e albo-tomentosas no dorso com 50 a 120 mm de comprimento, e 1 a 6 mm de largura. Capítulos dispostos em cimeiras terminais. Invólucro hemisférico de 8 a 10 mm de altura. Brácteas involucrais lineares lanceoladas agudas recurvadas, albo-tomentosas no dorso. Flores de 20 a 35, violáceas. Aquênios turbinados com 10 costelas, sérico-pubescentes, com 4 mm de comprimento; papus branco disposto em duas séries, a série externa curta e paleácea.

## RESULTADOS

Os principais dados sobre os experimentos com *Vernonia squarrosa* constam dos Quadros 1 a 3. Detalhes sobre os experimentos em que os animais mostraram sintomas são fornecidos a seguir.

### Experimentos em ovinos, com a planta fresca recém-coletada

*Ovino 3534*, fêmea, adulta, com 32,4 kg, recebeu em 7.11.73, das 12.45 às 15.30 horas, 1050 g (32,8 g/kg) das partes aéreas de *V. squarrosa*, fescas, colhidas em 6.11.73. A partir da manhã do dia seguinte ao da administração, às 9.40 h, observou-se que o animal tinha anorexia acentuada, não comendo quase nada, passando a maior parte do dia deitado, freqüentemente com o queixo no chão. A partir de 24 horas após a administração da planta teve timpanismo. No terceiro dia do experimento, isto é, em 9.11.73, passou quase o dia todo deitado, em posição esternal, muito lerdo, na parte da manhã ainda com leve timpanismo, que de tarde tinha desaparecido. Às 22.00 h estava em pé. Em 10.11.73, às 6.45 h, foi encontrado morto, devendo ter morrido aproximadamente às 6.00 h.-*Achados de necropsia*: no ecárdio, presença de grande quantidade de petéquias; pulmões com congestão moderada; superfície do fígado com pontilhado vermelho em fundo amarelado; superfície de corte amarelada com desenho maciço de pontilhado e estrias finas de cor vermelha (aspecto de noz-moscada acentuado); conteúdo do folhoso moderadamente ressequido, do ceco e do cólon ressequido sob forma de bolotas embebidas por sangue, sua mucosa coberta por sangue untuoso.-*Exames histopatológicos* (SAP 21389) revelam, no fígado, necrose e lise de quase todo o parênquima hepático, poupando poucas células ao redor do espaço porta (Fig. 4 e 5), acompanhadas de congestão e hemorragia centrolobulares; no pulmão, congestão moderada; no rim, dilatação de túbulos uriníferos, principalmente na córtex; no baço, congestão moderada e leve aglomeração de polimorfonúcleares ao redor dos folicúlos; no bulbo, pequenas hemorragias pericapilares.

*Ovino 3535*, fêmea, adulta, com 31,0 kg, recebeu em 8.11.73, das 9.20 às 9.40 e das 14.00 às 15.00 h, o total de 1000 g (33,9 g/kg) das partes aéreas de *V. squarrosa*, frescas, colhidas em 6.11.73. No dia seguinte ao da administração, na parte da manhã comeu devagar e pouco. Às 14.00 h ficou parcialmente deitado de lado, depois completamente em decúbito lateral, quando fazia fortes movimentos de pedalagem. Morreu à 18.30 h.-*Achados de necropsia*: superfície do fígado de coloração violáceo-acinzentada com desenho pontilhado em vermelho, superfície de corte com aspecto nitidamente de noz-moscada; parede da vesícula biliar com leve edema; ceco dilatado com conteúdo pastoso; no cólon poucas fezes, sob forma de pequenas bolotas com presença de muco e sangue.-*Exames histopatológicos* (SAP 21390) revelam, no fígado, necrose e necrobiose de todo o lóbulo hepático e congestão e hemorragias centrolobulares; baço com congestão moderada; rim, principalmente na córtex, com dilatação de túbulos uriníferos.

*Ovino 3536*, fêmea, adulta, com 36,5 kg, recebeu em 31.10.73, das 8.15 às 10.05 h, 700 g (19 g/kg) das partes aéreas de *V. squarrosa*, frescas, colhidas em 29.10.73. No terceiro dia do experimento, isto é, em 2.11.73, a partir de aproximadamente 48 horas após a administração da planta, o animal tinha andar com dorso arqueado e comia pouco durante o dia todo. No 4º dia do experimento, o animal eliminava fezes sob forma de bolotas mal formadas e untuosas, com muco e levemente embebidas de sangue, e continuou com anorexia ainda bastante acentuada. No 5º dia do experimento, estava restabelecido.

*Ovino 4128*, fêmea, com 40 kg, recebeu em 18.12.76, das 15.30 às 17.30 h, 1600 g (40 g/kg) das partes aéreas de *V. squarrosa*, frescas, colhidas em 16.12.76. A partir da tarde do dia seguinte ao da administração, 19.12.76, às 14.00, observou-se que o animal tinha anorexia acentuada; continuou assim no dia 20.12.76. Em 21.12.76 permanecia em posição esternal, com a cabeça encostada na parede, com a respiração com leve gemido. Tremores musculares nos lábios e nas pálpebras, na região do pescoço e tórax; pálpebras meio cerradas. Às 9.05 h caiu em decúbito lateral, colocou a cabeça em opistótono, fez repetidos e

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Vernonia squarrosa*

fortes movimentos de pedalagem e morreu às 9.13 h. *Achados de necropsia*: presença de pequena quantidade de equimoses no ventrículo esquerdo, fígado ao corte uniformemente com aspecto de noz-moscada. Ressecamento leve a moderado do conteúdo dos proventrículos. Ressecamento moderado do conteúdo do ceco e do cólon. *Exames histopatológicos* (SAP 22275) revelam, no fígado, necrose e necrobiose centrolobular acentuadas, acompanhadas de congestão e hemorragias acentuadas; rim, na córtex, com degeneração hidrópico-vacuolar difusa acentuada das células epiteliais dos túbulos uriníferos.

*Ovino 4129*, macho, castrado, com 49 kg, recebeu em 18.12.76, das 17.30 às 19.30 h, 1500 g (30 g/kg) das partes aéreas de *V. squarrosa*, frescas, colhidas em 16.12.76. A partir da tarde do dia seguinte ao da administração, 19.12.76, 14.00 h, observou-se que o animal tinha anorexia acentuada; continuou assim durante o dia seguinte, 20.12.76, ficando nesse dia, a partir das 15.50 h, em posição esternal. Em 21.12.76

às 7.00 h continuava nesta posição, com respiração gemida. Às 8.20 h foi encontrado morto, deitado de lado. *Achados de necropsia*: presença de numerosas petéquias e equimoses no tecido subcutâneo do dorso e em alguns pontos do mesentério; numerosas equimoses e sufusões no epicárdio e no endocárdio do ventrículo esquerdo; fígado à superfície uniformemente de cor acinzentada, e ao corte com numerosas estrias vermelhas, principalmente na porção central do lobo direito; leve ressecamento do conteúdo dos proventrículos; presença de muco e sangue no ceco e cólon. *Exames histopatológicos* (SAP 22276) revelam, no fígado, necrose e necrobiose de quase todo o parênquima hepático, especialmente acentuadas no centro dos lóbulos, poupando poucas células na periferia dos mesmos, onde as células hepáticas estão vacuolizadas, acompanhadas ou não de congestão e hemorragias centrolobulares leves a moderadas; baço com congestão moderada; rim, na córtex, com grande parte das células epiteliais dos túbulos uriníferos com degeneração vacuolar acentuada; coração com pequenas hemorragias no epicárdio; pulmão



Fig. 1. Campo infestado por *Vernonia squarrosa* (Less.) Lessing em fase de brotação, no município de Uruguaiana, Rio Grande do Sul.



Fig. 2. Brotação de *V. squarrosa*, com pouco mais de 20 cm de altura, no mês de outubro, mun. Uruguaiana.



Fig. 3. Brotação de *V. squarrosa* usada nos experimentos com bovinos e ovinos.

QUADRO 1. Experimentos em ovinos com *Vernonia squarrosa* (Less.) Lessing, em estado verde fresco, coletada no município de Uruguaiana, Rio Grande do Sul

Ovino		Planta administrada				Sintomas				
N.º	Peso (kg)	Data da coleta	Data do experimento	Quantidade (g)	Dose (g/kg)	Intensidade	Início após começo da administração da planta	Duração	Recuperado após ingestão da planta	Morte após início da administração da planta
3534 (21389) <sup>a</sup>	32,4	6.11.73	7.11.73	1050	32,8	Morreu	21h	44h	—	65h
3535 (21390)	31,0	6.11.73	8.11.73	1000	33,9	Morreu	24h	12h	—	36h
3536	36,5	29.10.73	31.10.73	700	19,0	Sintomas moderados	48h	48h	4 dias	—
3538	35,0	15.10.73	26.10.73	350	10,0	Sem sintomas	—	—	—	—
4128 (22275)	40,0	16.12.76	18.12.76	1600	40,0	Morreu	22h30min	44h20min	—	67h
4129 (22276)	49,0	16.11.76	18.12.76	1500	30,0	Morreu	20h30min	42h	—	62h30min
4130	42,0	16.12.76	18.12.76	600	15,0	Sintomas leves	39h	24h	63h	—

<sup>a</sup>Número de registro do material histopatológico no Setor de Anatomia Patológica, Unidade de Pesquisa de Patologia Animal, EMBRAPA, Km 47, Rio de Janeiro.

QUADRO 2. Experimentos em bovinos com *Vernonia squarrosa* (Less.) Lessing, em estado verde fresco, coletada no município de Uruguaiana, Rio Grande do Sul

Bovino		Planta administrada				Sintomas				
N.º	Peso (kg)	Data da coleta	Data do experimento	Quantidade (g)	Dose (g/kg)	Intensidade	Início após começo da administração da planta	Duração	Recuperado após ingestão da planta	Morte após início da administração da planta
3521	188	29.10.73	30.10.73	1880	10	Sem sintomas	—	—	—	—
3527	190	6.11.73	7.11.73	4000	21	Sintomas leves	25h	16h	41h	—
3529 (21386) <sup>a</sup>	167	25.10.73	27.11.73	3500	21	Morreu	25h	7h	—	32h
3987	161	16.12.76	17.12.76	6440	40	Sintomas leves	40h	2 dias	4 dias	—
4117 (22273)	97	16.12.76	18.12.76	4850	50	Morreu	22h	32h	—	54h
4121 (22274)	112	16.12.76	18.12.76	4480	40	Morreu	24h	42h	—	66h
4125	131	16.12.76	17.12.76	3930	30	Sintomas moderados a acentuados	39h	4 dias	5 dias e meio	—

<sup>a</sup>Número de registro do material histopatológico no Setor de Anatomia Patológica, Unidade de Pesquisa de Patologia Animal, EMBRAPA, Km 47, Rio de Janeiro.

QUADRO 3. Experimentos em bovinos com *Vernonia squarrosa* (Less.) Lessing dessecada, coletada no município de Uruguaiana, Rio Grande do Sul

Bovino		Planta administrada						Sintomas					
N.º	Peso (kg)	Data da coleta	Data do experimento	Planta dessecada		Correspondência com a planta recém-colhida <sup>a</sup>		Tempo decorrido desde a coleta da planta	Intensidade	Início após começo da administração da planta	Duração	Recuperado após ingestão da planta	Morte após início da administração da planta
				Quantidade (g)	Dose (g/kg)	Quantidade (g)	Dose (g/kg)						
3559	128	29.10.73	29.1.74	960	7,5	3840	30	3 meses	Sem sintomas	—	—	—	—
3559	131	29.10.73	17.9.74	1310	10	5240	40	10 meses e meio	Sintomas leves	38h	48h	86h	—
3554 (21693) <sup>b</sup>	119	29.10.73	1.10.74	2400	20	9600	80	11 meses	Morreu	12h	10 dias	—	10 dias e meio

<sup>a</sup> 1 kg da planta recém-colhida corresponde a 260 g da planta dessecada (relação 4:1).

<sup>b</sup> Número de registro do material histopatológico no Setor de Anatomia Patológica, Unidade de Pesquisa de Patologia Animal, EMBRAPA, Km 47, Rio de Janeiro.

com congestão moderada; suprarenal com hemorragia extensa na medular.

**Bovino 4130**, fêmea, adulta com 42 kg, recebeu em 18.12.76, das 17.30 às 19.30 h, 600 g (15 g/kg) das partes aéreas de *V. squarrosa* fresca, colhida em 16.12.76. No dia seguinte ao da administração, 19.12.76, observou-se que o animal tinha anorexia moderada; na parte da manhã pastou pouco e depois ficou parado com a cabeça baixa; à tarde comeu pouco. No dia 20.12.76 já pastava normalmente, estava restabelecido.

#### Experimentos em bovinos, com a planta fresca recém-coletada

**Bovino 3527**, macho, mestiço S. Gertrudes, com 190 kg, recebeu em 7.11.73, das 17.45 às 19.30 h, 4000 g (21,0 g/kg) das partes aéreas de *V. squarrosa*, frescas, coletadas em 6.11.73. No dia seguinte, às 18.30 h, não comeu o capim dado. Em 9.11.73, na parte da manhã, comeu pouco, estava com leve sialorréia e secreção ressequida nos olhos. Às 10.30 h já comia bem de novo.

**Bovino 3529**, macho, mestiço S. Gertrudes, com 167 kg, recebeu em 27.10.73, das 14.00 às 16.30 h, 3500 g (20,95 g/kg) das partes aéreas frescas de *V. squarrosa*, coletadas em 25.10.73. No dia seguinte à administração, a partir das 14.45 h foi notado que preferia ficar deitado, e que estava com anorexia total, lacrimejamento e tremores ligeiros da cabeça. Às 17.10 h foi preciso tocá-lo bastante para se levantar, quando apresentou andar muito cambaleante, quase caindo. Quando parado, ficou com os membros afastados, e encostado à parede. Focinho seco; com leve sialorréia. Às 17.30 h temp. 39,6, freq. card. 72, freq. resp. 32 por min., rúmen sem bracejos. Às 17.50 h, após tentar equilibrar-se a todo custo, caiu e ficou em decúbito lateral com a cabeça em opistótono. Colocado em posição esternal, apresentou leve balançar da cabeça, depois a encostou no flanco. Às 21.00 h estava novamente em decúbito lateral, calmo. Temp. 39,7, freq. card. 64, freq. resp. 24 com a expiração ruidosa, rúmen sem bracejos. Às 22.20 h foi encontrado morto. **Achados de necropsia:** superfície do fígado de coloração amarelada com denso desenho vermelho sob forma de arborização, com exceção de áreas nos bordos do órgão, principalmente do lado esquerdo; superfície de corte quase toda com aspecto de noz-moscada intenso com exceção do bordo do lobo esquerdo, que teve coloração amarelada com pontilhado vermelho; conteúdo do intestino grosso ligeiramente ressequido com presença de um pouco de muco embebido em sangue. **Exames histopatológicos** (SAP 21386) revelam, no fígado, necrose e necrobiose acentuadas afetando quase todo o parênquima hepático, poupando poucas células hepáticas na periferia do lóbulo, acompanhadas ou não de congestão e hemorragias centrolobulares acentuadas.

**Bovino 3987**, macho, mestiço Holandês Preto e Branco, com 161 kg, recebeu em 17.12.76, das 17.00 às 19.00 h, 6440 g (40 g/kg) das partes aéreas frescas de *V. squarrosa*, coletadas em 16.12.76. No segundo e terceiro dia após a administração, isto é, dias 19 e 20.12.76, foi observado que o animal tinha leve anorexia, e que as fezes estavam ressequidas. No dia 21.12.76 o animal não apresentou mais esses sintomas, estava restabelecido.

**Bovino 4117**, macho, mestiço, com 97 kg, recebeu em 18.12.76, das 10.00 às 16.30 h, 4850 g (50 g/kg) das partes aéreas frescas de *V. squarrosa*, coletadas em 16.12.76. No dia seguinte ao da administração, 19.12.76, às 8.00 h foi verificado que o animal tinha o focinho seco, fezes um pouco ressequidas, temp. 38,4, freq. card. 68, freq. resp. 24, rúmen sem movimentos de bracejos, à palpação compacto. O dia todo não comeu nada, não defecou; à noite não levantou quando tocado. Em 20.12.76, às 7.10 h, também não levantou quando tocado. Não comeu, não defecou, com focinho seco. Cabeça encostada no flanco ou para a frente, no chão. Às 10.45 h foram notadas convulsões clônicas nos membros anteriores. A partir das 12.20 h foi visto deitado sobre o lado direito; leves movimentos de pedalagem. Às 15.30 h tinha temp. 35,9, freq. card. 116, freq. resp. 16 com gemidos na expiração, rúmen compacto sem movimentos de bracejo. Morreu às 16.11 h. com parada da respiração, seguida da parada do coração. **Achados de necropsia:** fígado, na superfície e ao corte, com aspecto de noz-moscada muito nítido, sendo o bordo do lobo esquerdo mais uniformemente amarelado; edema gelatinoso acentuado de cor cística da parede da vesícula biliar, estendendo-se ao mesoduodeno; ressecamento do conteúdo

dos proventrículos; ressecamento do conteúdo do ceco e cólon, coberto de muco e sangue em alguns pontos. **Exames histopatológicos** (SAP 22273) revelam, no fígado, necrose e necrobiose de todo o parênquima hepático, acompanhadas ou não de congestão e hemorragias centrolobulares acentuadas; rim com degeneração vacuolar acentuada de grande parte dos túbulos uriníferos da sua córtex; baço com congestão moderada; ao redor dos folículos linfóides, infiltrados moderados por polimorfonucleares, formando halo.

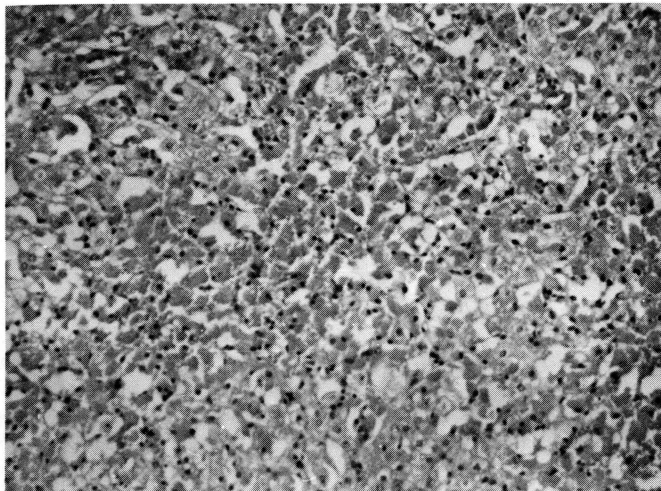
**Bovino 4121**, macho, mestiço holandês, com 112 kg, recebeu em 18.12.76, das 9.00 às 15.00 h 4480 g (40g/kg) das partes aéreas frescas de *V. squarrosa*, coletadas em 16.12.76. No dia seguinte ao da administração, 19.12.76, às 8.45 h, foi verificado que o animal tinha o focinho seco, temp. 38,2, freq. card. 52, freq. resp. 16, rúmen sem movimentos de bracejos, compacto à palpação. Durante o dia todo não comeu nada e eliminou poucas fezes. Tocado, andou arrastando os cascos no solo. No dia subsequente, 20.12.76, passou a maior parte do dia deitado em posição esternal, com focinho seco; não comeu nada, eliminou poucas fezes, ressequidas. Às 7.35 h temp. 38,4, freq. card. 60, freq. resp. 20, rúmen com movimentos de bracejos fracos, 2 em 2 min. Tocado, apresentou andar cambaleante, arrastando os cascos. Em 21.12.76, às 5.30 h foi encontrado morto, devendo ter morrido aproximadamente às 3.00 h. **Achados de necropsia:** áreas de equimoses e sufusões no epicárdio e endocárdio do ventrículo esquerdo; fígado, na superfície e ao corte, com exceção do centro do lobo direito, uniformemente amarelado-acinzentado, com algumas estrias vermelhas. Leve ressecamento do conteúdo dos proventrículos. Pouco conteúdo, um pouco ressequido, no ceco e cólon. **Exames histopatológicos** (SAP 22274) revelam, no fígado, necrose e necrobiose de quase todo o parênquima hepático poupando somente poucas células hepáticas na periferia dos lóbulos, sem congestão; rim com dilatação de túbulos uriníferos na córtex; baço com leves infiltrados polimorfonucleares ao redor dos folículos linfóides.

**Bovino 4125**, macho, mestiço Holandês Preto e Branco, com 131 kg, recebeu em 17.12.76, das 17.00 às 19.00 h, 3930 g (30 g/kg) das partes aéreas de *V. squarrosa* fresca. Em 19.12.76, às 8.00 h, verificou-se pela palpação que o rúmen era compacto e que, à auscultação, os seus movimentos de bracejo eram fracos, 2 em 2 min. Durante o dia todo observou-se que o animal tinha anorexia acentuada. Em 20.12.76 mostrou os mesmos sintomas, adicionalmente estava apático e tinha o focinho seco. Em 21.12.76 continuou a mostrar os mesmos sintomas, ainda mais acentuados. Eliminou poucas fezes, ressequidas. Em 22.12.76 o rúmen não era mais compacto e os seus movimentos estavam fortes, 2 em 2 min. O animal tinha o focinho úmido, comeu bem; eliminou fezes um pouco ressequidas. Em 23.12.76 estava restabelecido.

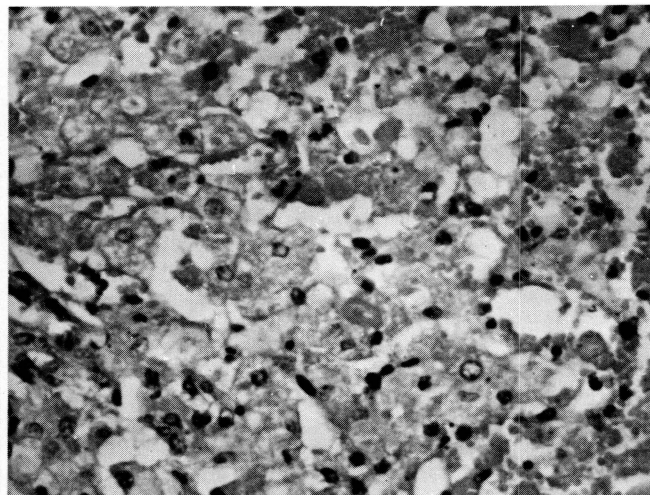
#### Experimentos em bovinos, com a planta dessecada

**Bovino 3559**, macho, mestiço Holandês Preto e Branco, com 131 kg, recebeu em 17.9.74, das 16.30 às 18.00 h e das 21.30 às 22.00 h, o total de 1310 g das partes aéreas dessecadas de *V. squarrosa* (correspondendo em peso a 40 g/kg da planta fresca recém-coletada), colhida em 29.10.73 no município de Uruguaiana. Em 19.9.74 às 7.00 h tinha focinho seco, catarro nos olhos, e anorexia leve, que se foi acentuando durante a tarde. Em 20.9.74 quase nada comeu durante o dia todo. O animal tinha o focinho seco, e eliminou fezes sob forma de bolotas. Em 21.9.74 de manhã ainda havia fezes ressequidas, mas durante o dia comeu bem; focinho úmido.

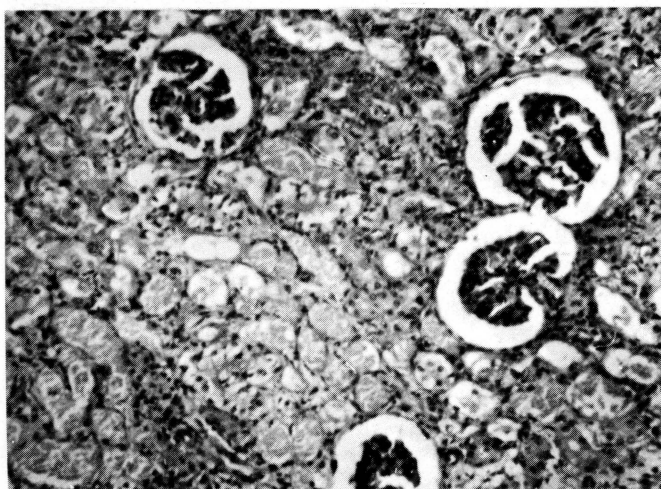
**Bovino 3554**, mestiço, com 119 kg, recebeu em 1.10.74, das 8.45 às 11.00 h e das 13.00 às 16.22 h, o total de 2400 g das partes aéreas dessecadas de *V. squarrosa* (correspondendo em peso a 80 g/kg da planta fresca recém-coletada) colhida em 29.10.73 no mun. Uruguaiana. No dia seguinte ao da administração, às 9.15 h, temp. 38,1, freq. card. 96, freq. resp. 12, rúmen só com murmúrio sem bracejos nítidos; focinho seco; expeliu durante o exame fezes ressequidas sob forma de bolotas com um pouco de muco. Tremores musculares em diversas partes do corpo, principalmente na região posterior, na da omoplata e no dorso. Durante o dia apresentou anorexia acentuada. A partir do 3º dia do experimento, 3.10.74, inicialmente comia pouco, e a partir do 7º dia



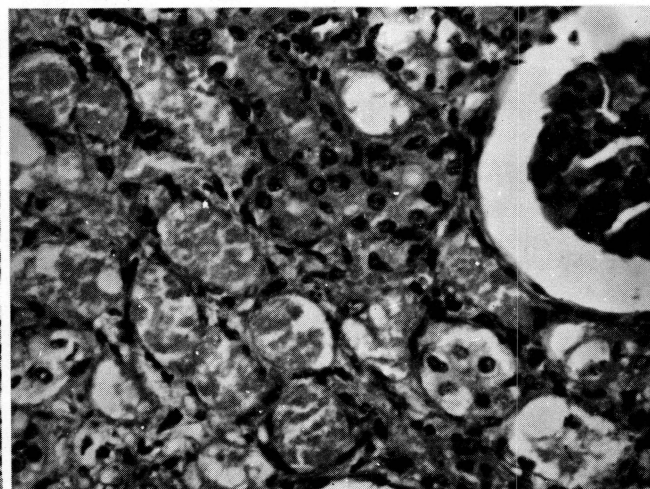
4



5



6



7

Fig. 4. Necrose e necrobiose do parênquima hepático na intoxicação experimental em ovinos por *V. squarrosa* (Ov. 3534). H.-E. Obj. 10.

Fig. 5. Aumento maior da lesão hepática (Ov. 3534). H.-E. Obj. 25.

Fig. 6. Necrose do epitélio dos túbulos uriníferos contornados proximais e dilatação da capsula de Bowman na evolução subaguda na intoxicação experimental em bovino por *V. squarrosa* dessecada (Bov. 3554). H.-E. Obj. 10.

Fig. 7. Aumento maior da lesão renal mostrada na figura anterior (Bov. 3554). H.-E. Obj. 25.

do experimento, não comeu mais nada. As fezes sempre eram ressequidas sob forma de bolotas pequenas, duras, às vezes com muco. O animal sempre tinha o focinho seco; o rúmen funcionava moderadamente até o dia 7.10.74, depois não se percebiam mais bracejos. A partir do 8º dia do experimento apresentava às vezes leves tremores musculares em diversas partes do corpo. Passava grande parte do dia em posição esternal. No 11º dia do experimento, 11.10.74, não levantou mais, e estava com hipotermia. Às 14.45 h estava em decúbito lateral, com respiração ofegante e às 14.46 h morreu. -*Achados de necropsia*: superfície do fígado com coloração violácea com fino desenho branco-acinzentado sob forma de fina arborização; superfície de corte de cor laranja com arborização fina nítida esbranquiçada; edema perirrenal acentuado, rins ao corte pálidos e úmidos; rúmen com conteúdo líquido, coagulador com leve edema de suas pregas, parte distal do intestino delgado e proximal do cólon com sua parede espessada devido a edema; conteúdo do ceco ressequido e do cólon sob forma de pequenas bolotas duras envolvidas parcialmente por muco. -*Exames histopatológicos* (SAP 21693), revelam, no fígado, esteatose difusa, em alguns lóbulos de intensidade leve, em outros de intensidade moderada, e nos espaços porta leve mas nítida proliferação de fibroblastos e de canalículos biliares; leve congestão centro-lobular; no rim, cápsulas de Bowman dilatadas; na córtex, as células epiteliais dos túbulos uriníferos contornados estão transformadas em massas eosinófilas claras amorfas preenchendo a luz dos túbulos uriníferos (Fig. 6 e 7); na medular há, nos túbulos uriníferos, presença de cilin-

droso hialinos, células epiteliais descamadas, vacuolização de células epiteliais, dilatação de grupos de capilares. O Sudan III revela a presença de gotículas coradas por esse corante, em maior ou menor quantidade, nos túbulos uriníferos preenchidos pelas massas amorfas, e presença de gotículas em células epiteliais da medular.

#### DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

*Vernonia squarrosa* mostrou-se tóxica em nossos experimentos tanto para ovinos como para bovinos.

Nos ovinos, quantidade de 10 g/kg (Ov. 3538) não causou sintomas de intoxicação, 15 g/kg (Ov. 4130) e 19 g/kg (Ov. 3536) causaram sintomas moderados passageiros, e quantidades um pouco acima de 30 g/kg (Ov. 3534, 3535, 4128 e 4129) causaram a morte dos animais. Os sintomas, nos experimentos que terminaram com a morte dos animais, apareceram de 20 e meia horas a 24 horas após a administração da planta e foram observados durante 12 horas a 44 horas e 20 minutos; eles consistiram principalmente em anorexia. Os achados de necropsia mais importantes foram no fígado e no intestino grosso; o fígado tinha aspecto de noz-moscada na superfície de corte; o conteúdo do intestino grosso estava ressequido e havia

nele presença de sangue e muco. As alterações histopatológicas principais eram necrose e necrobiose acentuadas do parênquima hepático, principalmente centrolobulares, acompanhadas na maioria dos casos de congestão e hemorragias centrolobulares; havia na córtex renal dilatação de túbulos uriníferos ou degeneração vacuolar acentuada da maioria de suas células epiteliais.

Nos bovinos houve uma apreciável diferença de susceptibilidade aos efeitos tóxicos da planta; quantidade de 10 g/kg (Bov. 3521), como nos ovinos, não causou sintomas de intoxicação. Quantidades ao redor de 20 g/kg causaram em um bovino (Bov. 3527) leves sintomas passageiros de intoxicação, enquanto em outro (Bov. 3529) causaram a morte; 30 g/kg causaram sintomas acentuados de intoxicação em um bovino (Bov. 4125) que, porém, se recuperou; 40 g/kg causaram leves sintomas em um (Bov. 3987) e a morte de outro (Bov. 4121); 50 g/kg causaram a morte de um bovino (Bov. 4117). Os sintomas nos experimentos que terminaram com a morte dos animais, apareceram 22 a 25 horas após a ingestão da planta e duraram de 7 a 45 horas. Eles consistiram tanto nos animais que morreram, como nos que se recuperaram, em anorexia, parada do rúmen, andar cambaleante, focinho seco, eliminação de fezes ressequidas. Os achados de necropsia mais importantes foram o aspecto de noz-moscada da superfície de corte do fígado, e os exames histopatológicos revelaram, como principal alteração, necrose e necrobiose acentuadas de quase todo o parênquima hepático, acompanhadas ou não de congestão e hemorragias centrolobulares (Fig. 4 e 5); na córtex renal havia dilatação de túbulos uriníferos em um caso, e degeneração vacuolar acentuada de suas células epiteliais em outro caso.

O bovino que recebeu a planta dessecada na quantidade correspondente a 30 g/kg da planta fresca não mostrou quaisquer sintomas de intoxicação (Bov. 3492); o que a recebeu em quantidade correspondente a 40 g/kg (Bov. 3559); mostrou sintomas leves de intoxicação, só adoecendo e morrendo o animal que a recebeu na quantidade correspondente a 80 g/kg (Bov. 3554); mas mesmo essa quantidade não foi suficiente para causar um quadro agudo, limitando-se a causar um quadro de evolução subaguda de intoxicação, em que em vez de alterações hepáticas predominavam as dos rins (Fig. 6 e 7).

Não sabemos ainda qual a importância de *V. squarrosa* como planta tóxica sob condições naturais para ovinos e bovinos. O quadro clínico patológico é muito semelhante ao causado por *Vernonia mollissima* Don e *Vernonia rubricaulis* H. et B. (Döbereiner *et al.* 1976, Tokarnia & Döbereiner 1982).

Nos casos de intoxicação com necrose hepática, deve-se, no futuro, além das plantas hepatotóxicas conhecidas como causadoras de quadro agudo de intoxicação em bovinos no Brasil, como *Cestrum laevigatum* Schlecht., *Sesaea brasiliensis* Toledo, *Vernonia mollissima* Don e *Vernonia rubricaulis* H. et B., levar em consideração, também, *Vernonia squarrosa*. (Andrade 1960, Canella *et al.* 1968, Döbereiner *et al.* 1969, 1976, Tokarnia & Döbereiner 1982).

No caso específico do município de Uruguaiana, Rio Grande do Sul, é bem possível que *V. squarrosa* seja a causa das mortandades em ovinos aí verificadas.

Queremos chamar a atenção para a circunstância de que, sob o nome de "alecrim", é conhecida no Rio Grande do Sul também outra espécie de *Vernonia*, *V. nudiflora* Lessing. Esta planta tem aspecto semelhante ao de *V. squarrosa*, porém com duas diferenças importantes sob o ponto de vista toxicológico: ao contrário de *V. squarrosa*, é de baixa palatabilidade e, em segundo lugar, sua ação tóxica não é sobre o fígado, mas sim sobre a parede do tubo digestivo, de ação irritante local (Döbereiner *et al.* 1983).

O termo "alecrim" é ainda usado em São Paulo para designar a árvore *Holocalyx glaziovii* Taub., uma leguminosa, cuja brotação é responsável pela "peste das queimadas", processo fotossensibilizante em bovinos (Silva 1940); ainda é usado para designar, entre outros, um arbusto no Estado do Rio de Janeiro, *Baccharis dracunculifolia* DC., uma composta, cujas folhas os bovinos não ingerem sob condições naturais, e que pela administração experimental não provocam fotossensibilização, nem são hepatotóxicas, mas sim causam perturbações digestivas (Tokarnia *et al.*, dados não publicados), e diversas outras plantas, sem ação tóxica conhecida para os nossos animais domésticos<sup>5</sup>.

<sup>5</sup> Pelo nome de alecrim são conhecidas as seguintes plantas:

Nome popular	Aspecto	Família	Espécie	Distribuição
De acordo com M. Pio Correa (Dicionário das plantas úteis do Brasil, Vol. 1. Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, p. 53-56, 266. 1926)				
Alecrim	Árvore	Leg. Caes.	<i>Holocalyx balansae</i> Micheli	Mato Grosso
"	"	"	<i>H. glaziovii</i> Taub.	São Paulo
"	Arbusto	Labiatae	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Todo o Brasil, originário da Europa
Alecrim-bravo	"	Guttiferaeae	<i>Hypericum laxiusculum</i> St-Hil.	São Paulo até o Rio Grande do Sul, Minas Gerais
Alecrim-da-praia	Herva	Cyperaceae	<i>Bulbostylis capillaris</i> C.B. Clarke	Todo o Brasil, pelo menos nos Estados litorâneos
Alecrim-de-São-José	Herva	Portulacaceae	<i>Portulaca pilosa</i> L.	Todo o Brasil
Alecrim-do-campo	Arbusto	Compositae	<i>Heterothalamus brunoides</i> Less.	Rio de Janeiro até o Rio Grande do Sul
"	Planta herbácea	Labiatae	<i>Keithia gracilis</i> Bth.	São Paulo até o Rio Grande do Sul
"	"	Verbenaceae	<i>Lantana microphylla</i> M.	Bahia até o Paraná
"	"	"	<i>Lippia microphylla</i> Cham.	Bahia e Minas Gerais
"	Planta herbácea	Compositae	<i>Vernonia brevifolia</i> Less.	São Paulo
Alecrim-do-mato	Arbusto	"	<i>Baccharis macrodonia</i> DC.	São Paulo, Minas Gerais, Goiás
"	"	"	<i>B. calvescens</i> DC.	Bahia até São Paulo, Minas Gerais
Alecrim-das-parcades	Herva	"	<i>Pterocaulon virgatum</i> DC.	Todo o Brasil

De acordo com R. Braga (Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. 2ª ed. Imprensa Oficial, Fortaleza, p. 16-17. 1960) ainda as seguintes plantas não mencionadas por M. Pio Corrêa, podem ser acrescentadas a esta lista:

Alecrim-bravo	Planta herbácea	Compositae	<i>Pectis apodocephala</i> Baker	Quase todo o Brasil
"	"	"	<i>P. elongata</i> H.B.K.	?
Alecrim-do-brejo	Erva	Escrofulariaceae	<i>Bacopa angulata</i> Edwall.	?
Alecrim-do-campo	?	Acantaceae	<i>Rhytiglossa leucophoea</i> Nees	Piauí

*Agradecimentos.*- Agradecemos à Dra. Graziela Maciel Barroso, Jardim Botânico do Rio de Janeiro, pela identificação e descrição da planta, e aos Drs. Hilton Jacques, Abyr Soares Becker e Alarico Vargas Morais, Uruguaiana, pela colaboração prestada na parte do trabalho realizada no Rio Grande do Sul.

#### REFERÊNCIAS

- Andrade S. 1960. Estudos sobre a toxicidade da *Sessea brasiliensis* Toledo. Arqs Inst. Biológico, S. Paulo, 27: 191-196.
- Braga R. 1960. Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. 2ª ed. Centro Divulg. Univ., Fortaleza, Ceará, Brasil.
- Canella C.F.C., Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1968. Intoxicação por *Sessea brasiliensis* Toledo em bovinos. Pesq. agropec. bras. 3: 333-340.
- Döbereiner J. & Tokarnia C.H. 1983. Intoxicação experimental por *Vernonia nudiflora* (Compositae) em bovinos e ovinos. (Em publicação)
- Döbereiner J., Tokarnia C.H. & Canella C.F.C. 1969. Intoxicação por *Cestrum laevigatum* Schlecht., a causa de mortandades em bovinos no Estado do Rio de Janeiro. Pesq. agropec. bras. 4: 165-193.
- Döbereiner J. Tokarnia, C.H. & Purisco E. 1976. *Vernonia mollissima*, planta tóxica responsável por mortandades de bovinos no sul de Mato Grosso. Pesq. Agropec. bras., Sér. Vet., 11: 49-58.
- Silva M.R. 1940. Fotossensibilização em bovinos. A "peste das queimadas", doença causada pelo *Holocalyx glaziovii* Taub. (alecrim). Arqs Inst. Biológico, S. Paulo, 11: 461-488, 16 estampas.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1975. Intoxicação experimental em bovinos por "mio-mio", *Baccharis coridifolia*. Pesq. agropec. bras., Sér. Vet., 10: 79-97.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1976. Intoxicação experimental em ovinos por "mio-mio", *Baccharis coridifolia*. Pesq. agropec. bras., Sér. Vet., 11: 19-26.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1979. Intoxicação por *Vernonia rubri-caulis* (Compositae) em bovinos em Mato Grosso. Pesq. Vet. Bras. 2(4): 143-147.

# POLIMORFISMO DA TRANSFERRINA SÉRICA EM BOVINOS DA RAÇA CANCHIM<sup>1</sup>

JEHUD BORTOLOZZI<sup>2</sup>

**ABSTRACT.**- Bortolozzi J. 1983. [Transferrin polymorphism in Canchim cattle.] Polimorfismo da transferrina sérica em bovinos da raça Canchim. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 3(2): 53-57. Depto Genética, Inst. Básico Biol. Médica e Agrícola, UNESP, Cx. Postal 102, Botucatu, São Paulo 18600, Brazil.

Bovine transferrins of 59 Canchim and 29 other hybrid cattle were analysed by horizontal electrophoresis using hydrolysed starch gels, stained with Amido Black-10B, and destained with a mixture of methanol, water and acetic acid (5:5:1). Each transferrin allele produced 4 separate bands. The frequencies observed were: Tf<sup>A</sup> = 0.331, Tf<sup>D1</sup> = 0.305, Tf<sup>D2</sup> = 0.169 and Tf<sup>E</sup> = 0.195 for Canchim, and Tf<sup>A</sup> = 0.569, Tf<sup>D1</sup> = 0.103, Tf<sup>D2</sup> = 0.034 and Tf<sup>E</sup> = 0.293 for the other hybrids. The samples from Canchim cattle were not found to be in Hardy Weinberg equilibrium, which can probably be explained by environmental selection. The relatively high frequency of Tf<sup>E</sup> in both the Canchim and the other breeds studied could be related to the good adaptability of these animals to the tropics.

**INDEX TERMS:** Transferrins, cattle, Canchim, polymorphism.

**SINOPSE.**- As transferrinas de 59 bovinos da raça Canchim e de 29 híbridos foram analisadas por eletroforese horizontal em gel de amido hidrolizado, após coloração com Amido Black-10B e descoloração com uma solução descolorante de metanol, água e ácido acético na proporção de 5:5:1. Cada alelo da transferrina produziu quatro bandas separadas eletroforeticamente e os resultados obtidos foram os seguintes: Tf<sup>A</sup> = 0,331, Tf<sup>D1</sup> = 0,305, Tf<sup>D2</sup> = 0,169 e Tf<sup>E</sup> = 0,195 para a raça Canchim e Tf<sup>A</sup> = 0,569, Tf<sup>D1</sup> = 0,103, Tf<sup>D2</sup> = 0,034 e Tf<sup>E</sup> = 0,293 para os mestiços. Em relação à raça Canchim, o rebanho estudado não está em equilíbrio de Hardy Weinberg, o que mostra uma possível seleção ambiental. A ocorrência de Tf<sup>E</sup> em frequência relativamente alta, tanto no Canchim como nos mestiços, estaria correlacionada com a grande adaptabilidade desses animais aos trópicos.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Transferrina, bovinos, polimorfismos, Canchim.

## INTRODUÇÃO

O estudo do controle genético das beta-globulinas, as quais têm mostrado nos animais domésticos uma grande diversidade, revelou, através do emprego de Fe<sup>59</sup> em auto-radiografia, a existência de uma forma especial de proteínas, descobertas por Holmberg e Laurell (1945) e denominadas por Giblett et al. (1959) de transferrinas. Estas são proteínas específicas, que têm a função vital de transportar íons de ferro do plasma aos receptores celulares da medula óssea. Estruturalmente, as transferrinas, ou siderofilinas, são glicoproteínas com peso molecular ao redor de 88.000.

As primeiras comunicações sobre o polimorfismo das transferrinas em bovinos, detectadas por eletroforese em gel de amido hidrolizado, foram realizadas por Smithies (1957), Smithies e Hicman (1958) e Ashton (1957, 1958 a, b). Makarechian e Howell (1966) demonstraram que todas as bandas visualizadas com corantes de proteínas na região das transferrinas eram transportadoras de ferro, o que foi confirmado por auto-radiografia.

Os estudos sobre as proteínas transportadoras de ferro, realizadas em outras espécies animais e no homem, demonstraram que elas são heterogêneas, comprovando que o ácido siálico é o responsável por essa heterogeneidade (Stratil & Spooner 1971).

A natureza molecular das diferenças entre as variantes de transferrina não foi ainda determinada, mas, provavelmente estará relacionada a substituições de aminoácidos (Stratil & Spooner 1971). A ocorrência dos múltiplos componentes da transferrina depende, contudo, do número de resíduos de ácido siálico (0 a 5) ligados em cada componente. Maeda et al. (1980) demonstraram também que, além dos resíduos de ácido siálico, a heterogeneidade dentro de cada variante reside na presença de dois tipos de cadeia polipeptídica: uma sem quebra e outra com quebra na ligação entre os resíduos 55 e 54 da porção C-terminal da molécula de proteína.

Em transferrinas são conhecidos vários alelos co-dominantes correspondentes a um só loco. Alguns desses alelos são características de algumas raças bovinas, como por exemplo Tf<sup>B</sup> e Tf<sup>C</sup>, que ocorrem em zebu e não existem em Jersey, Hereford ou Shorthorn, enquanto outros alelos, como Tf<sup>A</sup>, Tf<sup>D1</sup>, Tf<sup>D2</sup> e Tf<sup>E</sup> são amplamente difundidos (Quinteros & Miller 1968).

Os fenótipos das transferrinas mais comuns, de maior diferenciação, e suas combinações são: A, AD<sub>1</sub>, AD<sub>2</sub>, AE, D<sub>1</sub>, D<sub>1</sub>D<sub>2</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>1</sub>E, D<sub>2</sub>E e E. Cada tipo homocigoto, em gel de amido hidrolizado, migra da maneira de 4 proteínas diferentes, exibindo os heterocigotos combinações de quatro tipos de

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 31 de agosto de 1982.

<sup>2</sup> Departamento de Genética, Instituto Básico de Biologia Médica e Agrícola, UNESP, Caixa Postal 102. Botucatu, São Paulo 18600.

bandas com distintas posições na placa gelificada. Os fenótipos  $D_1$  e  $D_2$  são difíceis de se diferenciarem.

Com os estudos mais recentes realizados por diversos autores, e ainda após uma revisão na notação das transferrinas, podemos sugerir que sua síntese e expressão estão controladas por oito alelos, formando a seguinte série de alelos múltiplos co-dominantes, na seqüência decrescente de mobilidade eletroforética de cada uma das frações proteicas do soro:  $Tf^A_1$ ,  $Tf^A_2$ ,  $Tf^B$ ,  $Tf^{D_1}$ ,  $Tf^{D_2}$ ,  $Tf^F$ ,  $Tf^E$  e  $Tf^G$  (revisão em Bortolozzi et al. 1982).

Em virtude de os alelos serem co-dominantes, todas as combinações genótípicas possíveis podem ser evidenciadas através de eletroforese. Alguns casos de transferrinas com expressão anormal (migram com maior velocidade) foram descritos em bovinos Hereford. Tais transferrinas poderiam ser explicadas pela presença de um gene epistático (Spooner & Baxter 1969).

Com base nos resultados dos numerosos trabalhos já realizados nesse campo, hoje sabe-se que nas diversas raças de bovinos há uma predominância dos alelos  $Tf^A$ ,  $Tf^{D_1}$  e  $Tf^{D_2}$ , não ocorrendo o mesmo com a freqüência do alelo  $Tf^E$  nas raças européias. Também são de freqüência baixa os alelos  $Tf^{A_1}$ ,  $Tf^G$ ,  $Tf^B$  e  $Tf^E$ , acreditando-se que os dois últimos ocorram somente nos zebuínos.

A baixa freqüência do alelo  $Tf^E$  nas raças taurinas (Zurkowski et al. 1977) contrasta com sua alta freqüência nas raças índicas, o que fez Ashton (1959) associar esse fato à tolerância e resistência desses animais às condições ecológicas dos trópicos.

O presente trabalho teve por objetivo principal a caracterização do polimorfismo das transferrinas sérias em bovinos da raça Canchim e sua comparação com o das outras raças já estudadas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Todos os bovinos utilizados neste trabalho foram gentilmente cedidos pela UEPAE (Unidade de Execução de Pesquisas de Âmbito Estadual de São Carlos, da EMBRAPA). No período de novembro de 1977 a julho de 1978, foram utilizados 59 bovinos da raça Canchim (2 machos e 57 fêmeas de idade 3-4 anos) e 29 mestiços de diversas raças (1 macho e 28 fêmeas em idade de 3-4 anos).

A raça Canchim, inteiramente desenvolvida no Brasil, foi iniciada há 38 anos pelo zootecnista Antônio Teixeira Vianna (Vianna et al. 1962, Motta 1977). O esquema de cruzamento para se obter o Canchim, com caracteres de Charolês e Zebu, compreende, em sua etapa final, de acordo com a nomenclatura zootécnica, os cruzamentos animais com constituição 5/8 Charolês e 3/8 Zebu. O resultado é o bimestiço Canchim.

As amostras de sangue para esse estudo foram coletadas por punção da jugular e o soro foi conservado a  $-20^{\circ}\text{C}$ . As transferrinas foram determinadas pelo método de Quinteros e Miller (1968).

Segundo esse método as soluções tampões foram assim preparadas:

- Tampão do gel (gel buffer) pH = 6,8. Ácido cítrico a 10,5 g/l = 45 ml TRIS a 23 g/l = 38 ml. Água destilada q.s.p. = 500 ml;
- Tampão do eletrodo (tray buffer) pH = 8,7. Ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) = 37,0 g. Hidróxido de sódio (NaOH) = 8,0 g. Água destilada q.s.p. = 2,0 l.

O gel de amido, suficiente para 2 placas, foi preparada da seguinte maneira: 75 g. de amido hidrolizado (SIGMA), foram suspensos a frio com 110 ml de tampão do gel. Em seguida, foram adicionados à suspensão os 390 ml de tampão do gel, previamente aquecido a 100 graus, sendo agitado fortemente para se obter uma boa homogeneização

do hidrolizado. Antes da aplicação o gel foi deixado à temperatura ambiente durante noventa minutos.

As aplicações foram feitas a 4 cm do cátodo, em papéis Beckman nº 1 (tamanho 0,8 x 0,6 cm), embebidos no plasma ou soro utilizado, com 1 mm de separação um do outro.

Decorridos os primeiros 15 minutos de corrida eletroforética a 165 V, os papéis foram retirados, continuando a corrida por mais 15 minutos com a mesma voltagem. Em seguida, aumentou-se a voltagem para 350 V até finalizar o processo eletroforético, que se deu quando o limite boratado alcançou 12 cm de migração desde o ponto de inserção da amostra.

As duas primeiras etapas foram realizadas à temperatura ambiente, e a última (a 350 V) que só se dá com a diminuição da temperatura do gel de amido, o que foi conseguido, colocando-se sobre a placa gelificada um recipiente de plástico, com fundo plano, contendo uma quantidade suficiente de gelo.

Terminado o processo, a placa foi subdividida em placas de 3 mm, e logo em seguida corada com Amido Black 10B (Merck) durante 3 minutos, e em seguida descolorindo-se rapidamente, para se visualizar as transferrinas e albuminas, com a solução de lavagem preparada na proporção de 5:5:1 de metanol, água e ácido acético, respectivamente. Os resultados foram anotados em protocolos próprios.

Para as análises comparativas das freqüências gênicas dos polimorfismos estudados no presente trabalho com os da literatura para diversas raças de outros países, utilizou-se o teste descrito por Goodman (1965).

## RESULTADOS

A Figura 1 mostra uma placa de gel de amido, na qual podem ser identificados os fenótipos das transferrinas em bovinos da raça Canchim. O Quadro 1 mostra a distribuição dos 10 genótipos possíveis e as estimativas das freqüências alélicas. Os alelos mais freqüentes são  $Tf^A$  e  $Tf^{D_1}$ , na raça Canchim, e  $Tf^A$  e  $Tf^D$  nos mestiços.

Para se verificar, ou não, a condição de equilíbrio genético no loco da transferrina, a distribuição esperada dos genótipos foi calculado e comparada com os observados (Quadro 1). Como se vê, a análise estatística para a raça Canchim indica que a população não está em equilíbrio de Hardy Weinberg ( $X^2 = 12,47$ , gl = 3,  $P < 0,05$ ). O mesmo não ocorreu com os mestiços ( $X^2 = 2,21$ , gl = 3,  $P > 0,05$ ).

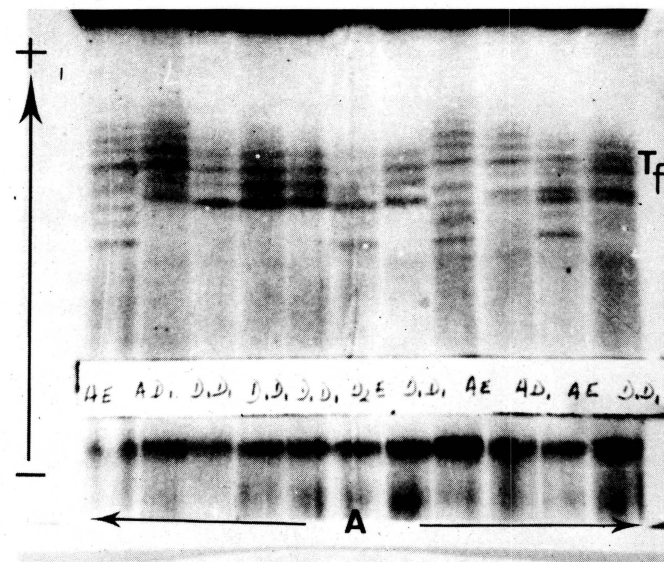


Fig. 1. Fotografia de uma placa de gel de amido mostrando os fenótipos das transferrinas em bovinos da raça Canchim. Especificações no texto.  $Tf$  = transferrinas e  $A$  = linha de aplicação.

Quadro 1. Distribuição observada e esperada dos genótipos das transferrinas séricas e respectivas frequências gênicas em bovinos da raça Canchim e Mestiços.<sup>(a)</sup>

Bovinos		Distribuição e frequências gênicas dos genótipos										
		AA	AD <sub>1</sub>	AD <sub>2</sub>	AE	EE	D <sub>1</sub> D <sub>1</sub>	D <sub>1</sub> D <sub>2</sub>	D <sub>2</sub> D <sub>2</sub>	D <sub>1</sub> E	D <sub>2</sub> E	TOTAL
Canchim	Observado	3	13	9	11	1	2	10	0	9	1	59
	Esperado	6,5	11,9	6,6	7,6	2,2	5,5	6,1	1,7	7,0	3,9	59
	Frequências gênicas: Tf <sup>A</sup> = 0,331; Tf <sup>D1</sup> = 0,305; Tf <sup>D2</sup> = 0,169; Tf <sup>E</sup> = 0,195											
Mestiços	Observado	9	3	1	11	1	0	0	0	3	1	29
	Esperado	9,3	3,4	1,1	9,7	2,5	0,3	0,2	0,1	1,8	0,6	29
	Frequências gênicas: Tf <sup>A</sup> = 0,569; Tf <sup>D1</sup> = 0,103; Tf <sup>D2</sup> = 0,034; Tf <sup>E</sup> = 0,293											

(a) Análise estatística: Canchim:  $X^2 = 12,47$ , gl = 3,  $P < 0,05$ ; Mestiços:  $X^2 = 2,21$ , gl = 3,  $P > 0,05$ .

## DISCUSSÃO

O polimorfismo da transferrina tem sido estudado em várias espécies de animais, principalmente mamíferos, aves e peixes (Lush 1966). Segundo Bortolozzi et al. (1982), a série alelomórfica da transferrina é composta de 8 alelos: Tf<sup>A1</sup>, Tf<sup>A2</sup>, Tf<sup>B</sup>, Tf<sup>D1</sup>, Tf<sup>D2</sup>, Tf<sup>F</sup>, Tf<sup>E</sup> e Tf<sup>G</sup>. No presente trabalho, foram identificados os 10 tipos que a técnica de Quinteros e Miller (1968) permite identificar. A comprovação de que as bandas observadas eram transferrinas foi feita através de auto-radiografia.

O tratamento com neuraminidase (Spooner & Baxter 1969) reduz a mobilidade da transferrina, mas não altera o padrão da banda, tornando-a apenas mais visível. Em humanos, foi demonstrado que a taxa de migração da transferrina diminui com esse tratamento, devido à remoção do ácido siálico das moléculas das proteínas (Parker & Bearn 1961). Resultado semelhante foi obtido por Gahne (1961) em bovinos. Devido à boa visibilidade de nossas placas (Fig. 1), não foi necessário esse tratamento.

Cada variante da transferrina, em bovinos, consta de quatro zonas separáveis eletroforicamente. Em outras espécies de animais, essas variantes exibem diversos números de zonas ou bandas: búfalos, três bandas; ovinos e caprinos, 2; equínos, 2; suínos, 3; galinhas, 3 (revisão em Bortolozzi et al. 1982). Nenhuma explicação satisfatória existe para essa variação entre as espécies. Gahne (1961) mostrou que, ao invés do ácido siálico, os carboidratos podem ser responsáveis pelas diferenças genéticas das transferrinas. Ele propõe que diferentes constituintes químicos combinados com as moléculas das transferrinas poderiam determinar variados padrões de bandas. Stratil (1967) propõe que conalbuminas, que possuem diferentes capacidades de combinações com íons de Fe, poderiam determinar diferentes mobilidades. Efremov et al. (1971) postularam que esse fato seria devido, em parte, a possíveis diferenças do peso molecular, número e tamanho dos resíduos do ácido siálico. Stratil e Spooner (1971) sugeriram que pelo menos três locos estão envolvidos no controle da biossíntese das transferrinas dos bovinos. Com base na segregação dos fenótipos identificados, pode-se concluir que alelos co-dominantes estão envolvidos no controle do polimorfismo da transferrina

Esse resultado está de acordo com observações feitas em outras espécies por Lush (1966).

A análise estatística do equilíbrio genético nesse loco (Quadro 1) mostrou, para a raça Canchim, que a amostra não está em equilíbrio de Hardy Weinberg. Esse resultado concorda com os de Mitat (1975) para as raças Santa Gertrudes e Criollo, e indica uma possível seleção ambiental.

No Quadro 2 é apresentada uma comparação entre as frequências gênicas da transferrina do gado Canchim com as das diferentes raças de bovinos criadas em outros países. A análise estatística não mostrou diferença significativa entre as frequências gênicas dos alelos do Tf<sup>A</sup> da raça Canchim e as das demais raças comparadas. Com relação a Tf<sup>D</sup>, somente as raças Simental e Charolês (Cuba) é que apresentam diferenças significativas, que provavelmente são devidas a condições de manejo diferentes nessas duas raças.

Segundo Zurkowski et al. (1977), o alelo Tf<sup>E</sup> é um dos mais interessantes alelos das transferrinas em bovinos. Apresenta distribuição bem variada, sendo inexistente em algumas raças (Jersey, Charolês canadense, Shorthorn), enquanto que em outras raças ocorre com frequência relativamente alta (Zebu, Africander, Zgumi e Sahival). Osterhoff e Neethling (1969) relataram que as raças que apresentam o alelo Tf<sup>E</sup> em alta frequência, são as que têm boa resistência ao estresse climático. Animais homozigotos para Tf<sup>E</sup> são mais resistentes ao calor que os homozigotos para Tf<sup>A</sup> ou Tf<sup>D</sup>. Além disso, os genótipos Tf<sup>D</sup>/Tf<sup>E</sup> e Tf<sup>E</sup>/Tf<sup>E</sup> estão correlacionados com pouco ganho de peso e baixo coeficiente de conversão alimentar. Assim, esse alelo merece ser estudado com mais atenção, pois, se por um lado aumenta a resistência do animal, por outro diminui sua produção. Sua frequência na raça Canchim é estatisticamente semelhante à das raças comparadas (Quadro 2), com exceção das raças Charolês canadense, Shorthorn e Sahival, com as quais apresenta diferença significativa. Spooner e Baxter (1969) relataram a existência de transferrinas anormais que seriam segundo eles, genótipos heterozigotos com migração de bandas alteradas. Neste trabalho não encontramos nenhum fenótipo desse tipo.

Não encontramos, na literatura, evidências definitivas sobre o significado adaptativo do polimorfismo das transferrinas nas

Quadro 2. Comparação das frequências gênicas do loco da transferrina do gado Canchim com algumas raças de bovinos de outros países

Raças e mestiço	Países e autores	Frequências gênicas			Número de animais
		T <sub>f</sub> <sup>A</sup>	T <sub>f</sub> <sup>D<sup>(a)</sup></sup>	T <sub>f</sub> <sup>E</sup>	
Holstein	U.S.A. (Arave et al. 1971)	0,572	0,387	0,041	184
	Canadá (Kraay 1970)	0,520	0,440	0,040	400
	Japão (Abe et al. 1970)	0,356	0,626	0,019	1066
	Inglaterra (Jamieson 1966)	0,470	0,480	0,050	414
	Cuba (Mitat 1975)	0,432	0,462	0,106	404
	África do Sul (Osterhoff & Neethling 1969)	0,435	0,530	0,035	116
	Suécia (Gahne 1961)	0,485	0,500	0,015	204
	Rumânia (Milovan & Granciu 1972)	0,397	0,573	0,030	237
Simental	Canadá (Kraay 1970)	0,150	0,820	0,030	55
Sta. Gertrudes	Cuba (Mitat 1975)	0,270	0,509	0,190	339
Shorthorn	Inglaterra (Ashton 1958b)	0,629	0,358	0,014	141
	Canadá (Kraay 1970)	0,690	0,310	0,000	50
	Japão (Abe et al. 1970)	0,535	0,404	0,061	156
Nguni	África do Sul (Osterhoff & Neethling 1969)	0,385	0,265	0,390	100
Africander	África do Sul (Osterhoff & Neethling 1969)	0,397	0,332	0,267	223
Sahivel	Índia (Jamieson 1966)	0,020	0,310	0,660	85
Icelandic	Iceland (Braend et al. 1962)	0,346	0,645	0,010	941
Longhorn	U.S.A. (Miller 1966)	0,300	0,650	0,050	303
Criollo	Cuba (Mitat 1975)	0,444	0,397	0,132	551
	Argentina (Quinteros 1976)	0,494	0,311	0,195	82
Charolês	Cuba (Mitat 1975)	0,230	0,757	0,013	529
	Inglaterra (Jamieson 1966)	0,370	0,630	0,000	23
	Canadá (Kraay 1970)	0,290	0,710	0,000	50
	Japão (Abe et al. 1970)	0,346	0,654	0,000	52
Zebu	Cuba (Mitat 1975)	0,128	0,454	0,398	98
Canchim	Brasil (presente trabalho)	0,331	0,474	0,195	59
Mestiço	Brasil (presente trabalho)	0,569	0,137	0,293	29

$$(a) T_f^D = T_f^{D_1} + T_f^{D_2}$$

diversas espécies. Entretanto, existem vários trabalhos que sugerem que as transferrinas possam estar associadas a outras funções, além do transporte de íons ferro, tais como efeitos bacteriostáticos, inibições de crescimento de viroses e ação complementar na resistência a infecções (revisão em Buettner-Januch 1970). Essas evidências, mais as correlações com as características produtivas, poderiam ser as causas da manutenção do polimorfismo dessa proteína.

*Agradecimentos.*- O autor agradece ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro (PIG.

Proc. 40.0594/80), e ao Dr. Ademar Freire-Maia, pela leitura crítica do manuscrito.

#### REFERÊNCIAS

- Abe T., Mogi K., Tanaka T. & Suzuki, S. 1970. Blood protein polymorphism of the native cattle, horses and pigs in Eastern Asia. In: 12<sup>o</sup> Proc. European Conference on Animal Blood Groups and Biochemical Polymorphism, Budapest, Akademiai Kiado, p. 225-228.
- Arave C.W., Lamb R.C. & Hines H.C. 1971. Blood and milk protein polymorphism in relation to feed efficiency and production traits of dairy cattle. J. Dairy Sci. 54: 106-112.

- Ashton G.C. 1957. Serum protein differences in cattle by starch gel electrophoresis. *Nature, Lond.*, 180: 917-919.
- Ashton G.C. 1958a. A genetic mechanism for protein polymorphism in cattle. *Nature, Lond.*, 182: 65-66.
- Ashton G.C. 1958b. Genetics of beta-globulin polymorphism in British cattle. *Nature, Lond.*, 182: 370-372.
- Ashton G.C. 1959. Beta-globulin alleles in some Zebu cattle. *Nature, Lond.*, 184: 1135-1136.
- Bortolozzi J., Pagani M.I. & Teixeira L. 1982. Metodologia usada no estudo dos sistemas polimórficos de bovinos. I. Polimorfismo bioquímico. *Revta Naturalia. (No prelo)*
- Braend M., Rendel J., Gahne B. & Adalsteinsson S. 1962. Genetic studies on blood groups, transferrins and haemoglobins in Icelandic cattle. *Hereditas* 48: 264-283.
- Buettner-Janusch J. 1970. Evolution of serum protein polymorphism. *Ann. Rev. Genet.* 4: 47-68.
- Efremov G.D., Smith L.L., Barton B.P. & Huisman T.H.J. 1971. Studies on bovine transferrin; isolation and partial characterization. *Anim. Blood Groups Biochem. Genet.* 2: 159-177.
- Gahne B. 1961. Studies of transferrins in serum and milk of Swedish cattle. *Anim. Prod.* 3: 135-145.
- Giblett E.R., Hichman C.G. & Smithies O. 1959. Serum transferrins. *Nature, Lond.*, 183: 1589.
- Goodman L.A. 1965. On simultaneous confidence intervals for multinomial proportion. *Technometrics* 7: 247-254.
- Holmberg C.G. & Laurell C.B. 1945. Studies on the capacity of serum to bind iron. A contribution to our knowledge of the regulation mechanism of serum iron. *Acta Physiol. Scand.* 10: 307-319.
- Jamieson A. 1966. The distribution of transferrin genes in cattle. *Heredity* 21: 191-218.
- Kraay G.J. 1970. A study of protein and enzyme polymorphisms in blood of Canadian cattle. In: Proc. 12<sup>o</sup> European Animal Blood Groups Conference and Biochemical Polymorphism. *Akademiai Kiado, Budapest*, p. 155-158.
- Lush I.E. 1966. The biochemical genetics of vertebrate except man. *Holland research monographs: frontiers of biology. Holland Publ., Amsterdam*, v. 3. 118 p.
- Maeda K., McKenzie H.A. & Shaw D.C. 1980. Nature of the heterogeneity within genetic variants of bovine serum transferrin. *Anim. Blood Groups. Biochem. Genet.* 11: 63-75.
- Makarechian M. & Howell W.E. 1966. Improved technique for separation and identification of bovine beta-globulins by starch-gel electrophoresis. *Can. J. Biochem. Physiol.* 44: 1089-1104.
- Miller W.J. 1966. Blood groups in Longhorn cattle. *Genetics* 54: 291-404.
- Milovan E. & Granciu I. 1972. Study on biochemical polymorphism in Holstein and Pinzgau breeds of cattle. In: Proc. 13<sup>o</sup> European Conference on Animal Blood Groups and Biochemical Polymorphism, Vienna, p. 39-40.
- Mittat J. 1975. Marcadores genéticos en el ganado bovino cubano. *Ciências Agropecuárias, Série Engenharia Pecuária, Cuba*, 10: 1-108.
- Motta A.C. 1977. Canchim: resumos informativos, EMBRAPA n<sup>o</sup> 8, Brasília. 35 p.
- Osterhoff D.R. & Neethling L.P. 1969. Recent studies on cattle transferrin. *Afr. Vet. Med. Ass.* 40: 75-80.
- Parker W.C.S. & Bearn A.G. 1961. Studies on the transferrins of adult serum, cord serum and cerebrospinal fluid. The effect of neuraminidase. *J. Exp. Med.* 115: 83-105.
- Quinteros I.R. 1976. Estudio racial comparativo de marcadores genéticos en bovinos Criollos. *Mendeliana, Argentina*, 1: 9-16.
- Quinteros I.R. & Miller W.J. 1968. An alternative method in distinguishing cattle transferrin phenotypes. *Biochem. Genet.* 2: 213-218.
- Smithies O. 1957. Variations in human serum B-globulins. *Nature, Lond.*, 180: 1482-1483.
- Smithies O. & Hickman C.G. 1958. Inherited variants in serum proteins of cattle. *Genetics* 3: 374-385.
- Spooner R.L. & Baxter G. 1969. Abnormal expression of normal transferrin alleles in Cattle. *Biochem. Genet.* 2: 371-382.
- Stratil A. 1967. The effect of iron addition to avian egg white on the behavior of conalbumin fractions in starch gel electrophoresis. *Comp. Biochem. Physiol.* 22: 227-233.
- Stratil A. & Spooner R.L. 1971. Isolation and properties of individual components of cattle transferrin: the role of sialic acid. *Biochem. Genet.* 5: 347-365.
- Vianna A.T., Santiago M.S. & Gomes F.P. 1962. Formação do gado Canchim pelo cruzamento Charolês-Zebu. *Estudos Técnicos n<sup>o</sup> 19, Serv. Inf. Agríc. Min. Agricultura, Rio de Janeiro*. 176 p
- Zurkowski M., Skaladanowska E. & Szeniawaska D. 1977. Distribution of allele T<sup>rE</sup> in cattle. *Prace Mat. Zootech. Poland* 12: 51-55.

# INTOXICAÇÃO POR *Claviceps paspali* EM BOVINOS NO RIO GRANDE DO SUL<sup>1</sup>

FRANKLIN RIET-CORREA<sup>2</sup>, ANA LUCIA SCHILD<sup>2</sup>, MARIA DEL CARMEN MÉNDEZ<sup>2</sup>,  
ALFREDO S. TAVARES<sup>2</sup> E JOÃO ONETE RODRIGUES<sup>2</sup>

**ABSTRACT.**- Riet-Correa F., Schild A.L., Méndez M.C., Tavares A.S. & Rodrigues J.O. 1983. [Intoxication by *Claviceps paspali* in cattle in Southern Brazil.] Intoxicação por *Claviceps paspali* em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 3(2): 59-65. Laboratório Regional de Diagnóstico, Fac. Vet., Univ. Fed. Pelotas, Campus Universitário, Pelotas, RS 96100, Brazil.

Five outbreaks of intoxication by the fungus *Claviceps paspali* in cattle in the State of Rio Grande do Sul, Brazil, are described. The disease which occurred during April and May, 1982, was caused by the ingestion of infected seed heads of *Paspalum dilatatum* and *Paspalum notatum*. The main clinical signs observed were staggering and ataxia. The morbidity rate was 12,8% and mortality rate 1,8%, with cattle of both sexes and various ages being affected. Three animals necropsied had an increased cerebrospinal fluid volume, two showing subdural hemorrhages in the spinal cord. The main histological lesions were degenerative changes of Purkinje cells. In one case axonal spheroids in the cerebellar granular layer were observed. The intoxication was reproduced experimentally in three calves. One of these animals was killed and at necropsy showed increased cerebrospinal fluid volume, subdural hemorrhages in the spinal cord and degeneration of Purkinje cells; the other two recovered 5 days after the last administration of infected seeds. The average monthly precipitation during March and April, 1982, was considerably lower than normal values for the region. It is conceivable that this drought may have modified the environment to the extent that a) sufficient green forage was no longer available, b) the production of seed heads was considerably increased and/or c) the level of infection by *C. paspali* in the grass was increased. These changes may have ultimately been responsible for the occurrence of at least 33 outbreaks of the disease in the State.

**INDEX TERMS:** Mycotoxicosis, cattle, *Claviceps paspali*, *Paspalum* staggers.

**SINOPSE.**- Descrevem-se cinco surtos de intoxicação por *Claviceps paspali* em bovinos no Rio Grande do Sul. A doença ocorreu nos meses de abril e maio de 1982 e foi causada pela ingestão de sementes de *Paspalum dilatatum* e *Paspalum notatum* infectadas pelo fungo. Os principais sintomas observados foram tremores musculares e ataxia. A morbidade foi de 12,8% e a mortalidade de 1,8%, sendo afetados animais de diversas categorias. Três animais necropsiados apresentaram aumento de líquido cefalorraquidiano, e dois deles, hemorragias subdurais na medula. Histologicamente observou-se degeneração das células de Purkinje e, em um caso, numerosos esferóides na capa granular do cerebelo. A doença foi reproduzida experimentalmente em três bezerros. Um foi sacrificado, observando-se, na necropsia, aumento do líquido cefalorraquidiano, hemorragias subdurais na medula e alterações degenerativas das células de Purkinje. Nos dois restantes, os sintomas clínicos desapareceram totalmente cinco dias após terem deixado de ingerir a planta. O estudo dos dados climáticos mostrou que nos meses de março e abril de 1982 as precipitações pluviais foram consideravelmente menores que as normais para a re-

gião. Admite-se que alguns aspectos epidemiológicos teriam sido modificados pela estiagem, determinando a ocorrência dos surtos descritos e de pelo menos outros vinte e oito surtos constatados no Estado durante o outono de 1982. Três desses fenômenos são sugeridos como prováveis fatores desencadeantes: a) diminuição de disponibilidade de forragem verde; b) concentração da frutificação gramínea; c) aumento da taxa de infecção de *Paspalum* por *Claviceps paspali* e/ou de seu conteúdo em toxinas.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Micotoxicoses, bovinos, *Claviceps paspali*, *Paspalum dilatatum*, *Paspalum notatum*, tremores musculares.

## INTRODUÇÃO

A intoxicação por *Claviceps paspali* Stev. et Hall, caracterizada por tremores musculares e ataxia, é uma micotoxicose que tem sido descrita em diversos países (Hopkirk 1936, Grayson 1941, Simms 1945, Lopes Frazão 1955, Bianchi et al. 1965, Ehret et al. 1968) incluindo Argentina (Ragonese 1955, Grisóla & Vallejo 1970) e Uruguai (Riet Alvariza et al. 1976). A enfermidade afeta principalmente bovinos mas tem sido observada também em bubalinos (Bianchi et al. 1965), ovinos e eqüinos (Cysewski 1973, Blood et al. 1979) e reproduzida experimentalmente em cobaias (Brown 1916, Riet Alvariza et al. 1976).

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 16 de novembro de 1982.  
Trabalho financiado pelo CNPq.

<sup>2</sup> Laboratório Regional de Diagnóstico, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul 96100.

A micotoxicose ocorre quando o fungo parasita gramíneas do gênero *Paspalum* entre as quais se encontram *P. dilatatum* (Brown 1916, Simms 1945, Ragonese 1955, Ehret et al. 1965, Riet Alvariza et al. 1976), *P. notatum* (Ragonese 1955, Riet Alvariza et al. 1976) e *P. distichum* (Grayson 1941, Lopes Fração 1955, Ragonese 1955, Ehret et al. 1968). A doença também pode ser causada pela ingestão de plantas do gênero *Hilaria* spp. infectadas por *Claviceps cinerea* (Dollahite 1963). Uma enfermidade semelhante ocorre em diversas espécies animais e no homem, ocasionada pela ingestão de *Paspalum scrobiculatum*, porém, sem estar relacionada à infecção da gramínea por *C. paspali* (Gupta & Bhide 1967).

O ciclo biológico de *Claviceps paspali* tem uma etapa assexuada que ocorre nas plantas e outra sexuada que ocorre no solo. As ascosporas do fungo infectam as flores de *Paspalum* spp. e formam um micélio com conidióforos com pequenos conídios, ocorrendo a formação de um líquido similar a mel. Posteriormente o micélio se endurece e transforma-se em escleródio, o qual se caracteriza pela formação de uma massa dura de cor cinza-amarelada ou marrom (Brown 1916). Como consequência da presença de líquido similar a mel, quando o fungo está na etapa de micélio, algumas espécies de *Paspalum*, principalmente *P. dilatatum*, são conhecidas com o nome comum de "melador" ou "meloso".

Na fase de escleródio o fungo contém alcalóides, amidas e carbinol amidas dos ácidos lisérgico e isolisérgico, que seriam responsáveis pela sua toxicidade (Bianchi et al. 1965, Castiglioni et al. 1979). Menciona-se também a existência de toxinas tremogênicas no *C. paspali* que não são alcalóides (Mortimer 1978).

No Brasil, a ocorrência de *C. paspali* parasitando gramíneas tem sido associada à ocorrência de casos de ergotismo em bovinos (Portugal et al. 1979).

O objetivo do presente trabalho é descrever diversos surtos de intoxicação por *C. paspali* em bovinos, ocorridos durante o outono de 1982 no Rio Grande do Sul.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os dados epidemiológicos e manifestações clínicas foram observados em visitas realizadas a 5 estabelecimentos onde ocorreu a doença.

Os estudos patológicos foram realizados em 3 bovinos, procedentes dos municípios de Bagé (nº 1), Pelotas (nº 2) e Pinheiro Machado (nº 3), que apresentaram sintomatologia característica da enfermidade. Os animais foram sacrificados por exanguinação. Materiais para histologia, incluindo sistema nervoso central (SNC) e diversos órgãos, foram fixados em formol neutro a 10%, incluídos em parafina e corados pela técnica de hematoxilina-eosina. No SNC foram estudados cortes histológicos realizados em medula cervical, dorsal e lombar, cerebelo, pedúnculos cerebelares, ponte, tubérculos quadrigêmeos, cápsula interna, tálamo e córtex cerebral.

Para a reprodução experimental da doença, sementes de *Paspalum dilatatum* Poir e *Paspalum notatum* Fleug foram colhidas manualmente, misturadas com água em um liquidificador e administradas por via bucal a um terneiro cruza Devon (nº 4) e dois terneiros cruza Holandês (nº 5 e nº 6). A origem das sementes, dose diária administradas, e peso dos terneiros apresentam-se no Quadro 2.

O terneiro nº 4 foi sacrificado ao 13º dia após iniciada a administração da planta. Aos terneiros nº 5 e nº 6 a planta foi administrada du-

rante 3 dias, observando-se diariamente os animais até o desaparecimento dos sinais clínicos.

Os três terneiros aos quais a planta foi administrada, juntamente com dois testemunhas de peso e idade similares foram mantidos em um potreiro de aproximadamente 4 hectares e suplementados com 1 kg diário, por animal, de ração comercial para bovinos.

## RESULTADOS

### Manifestações clínicas e epidemiologia

As manifestações clínicas caracterizaram-se por tremores afetando principalmente os músculos do pescoço e os membros anteriores e posteriores. Alguns animais apresentavam ataxia e dismetria com hipermetria. Outros caminhavam com os membros anteriores e posteriores rígidos. Todos os bovinos afetados apresentavam uma atitude de alerta, com as orelhas eretas.

Quando os animais eram movimentados, os sinais clínicos se agravavam (Fig. 1) observando-se aumento dos tremores e rigidez dos membros posteriores, podendo cair em posições diversas, tais como, com os membros anteriores e posteriores estendidos, sentados sobre os membros posteriores ou em decúbito lateral (Fig. 2 e 3). Após alguns minutos, os animais voltavam a ficar em pé mostrando tremores e ataxia.

Os bovinos continuavam alimentando-se, sendo que, quando estavam pastando, permaneciam com os membros rígidos e abertos para manterem o equilíbrio. Em alguns animais, observava-se salivação excessiva e em outros diarreia.

Quando os animais eram retirados das pastagens, apreciava-se uma rápida recuperação, não se observando manifestações clínicas após 7 a 15 dias. Alguns bovinos morriam em consequências de acidentes tais como afogamento ou traumatismo sofridos durante as quedas. Outros permaneciam em decúbito permanente morrendo em consequência.

Os municípios onde foram observados os surtos, tipo de potreiro nos quais ocorreu a doença, categorias afetadas, morbidade e mortalidade apresentam-se no Quadro 1. No mesmo quadro observam-se as espécies de *Paspalum* predominantes. Em todos os casos encontravam-se numerosas sementes dessas gramíneas infectadas por *C. paspali* (Fig. 4 e 5) na etapa de escleródio. Alguns desses escleródios estavam parasitados por *Fusarium heterosporum* Nees ou *Cerebella andropogonis* Ces<sup>3</sup>.

Segundo o proprietário do estabelecimento localizado em Bagé, a doença já teria ocorrido no ano anterior, afetando 3 bovinos no seu estabelecimento e vários animais em um estabelecimento vizinho. Os demais proprietários não tinham observado a doença anteriormente.

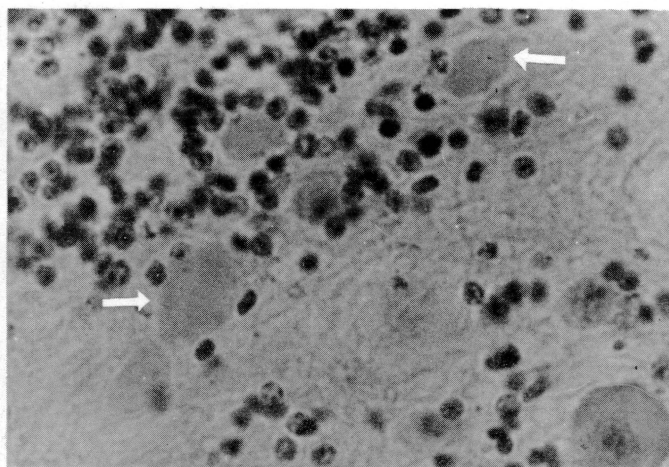
### Patologia

Nos 3 animais necropsiados, foi observado considerável aumento da quantidade de líquido cefalorraquidiano. Um animal (nº 2) apresentava hemorragias subdurais à altura das 2 primeiras vértebras lombares, enquanto que outro (nº 3)

<sup>3</sup> Todos os fungos foram identificados pelo professor Gilberto Luzzardi, da Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul.



1



2



3



4

Fig. 1. *Animal intoxicado espontaneamente por C. paspali, mostrando severa ataxia após ter sido movimentado.*

Fig. 2. *Cerebelo do animal n.º 3 mostrando esferóides axonais (seta) na capa granular do cerebelo. H.-E. Obj. 40.*

Fig. 3 e 4. *Animal intoxicado espontaneamente por C. paspali, caindo em duas posições diferentes após ter sido movimentado.*

apresentou hemorragias subdurais à altura das 3 primeiras vértebras cervicais, e na abertura da cavidade craniana, líquido sero-hemorrágico no espaço subdural. As únicas lesões histológicas observadas nos 3 animais foram alterações degenerati-

vas de algumas células de Purkinje, as quais apresentavam-se eosinofílicas contraídas e com desaparecimento dos grânulos de Nissl. No animal n.º 3, foram observados numerosos esferóides axonais na capa granular do cerebelo (Fig. 6), edemas



Fig. 5. *Paspalum dilatatum infectado por C. paspali. Município de Pelotas, Rio Grande do Sul.*



Fig. 6. *Paspalum notatum infectado por C. paspali. Mun. Pelotas.*

Quadro 1. Município, período do ano no qual ocorreu a doença, tipo de poteiros, morbidade, mortalidade, categoria de animais afetados e espécies de *Paspalum* encontradas

Estabelecimento	Município e período	Nº e tipos de poteiros(a)	Espécies de <i>Paspalum</i> (b)	Categorias e nº de animais	Morbidade		Mortalidade	
					Nº	%(c)	Nº	%(c)
1	Pelotas 1.4 a 15.4.82	1 pastagem de <i>Lolium multiflorum</i> e <i>Trifolium repens</i>	<i>P. notatum</i> <i>P. dilatatum</i>	23 vacas	2	8,7	0	0,0
				15 bezerros	3	20,0	1	6,7
2	Pelotas 1.4 a 15.4.82	2 restevas de arroz	<i>P. notatum</i> <i>P. dilatatum</i>	52 vacas	12	23,0	1	1,9
				22 bezerros	4	18,2	1	4,5
				500 ovinos	0	0,0	0	0,0
3	Bagé 1.4 a 24.4.82	4 pastagens de <i>L. multiflorum</i> e <i>L. corniculatus</i>	<i>P. dilatatum</i>	72 novilhos	5	6,9	2	2,8
				18 bezerros	8	44,4	2	11,1
				40 vacas	5	12,5	1	2,5
				60 novilhas	5	8,3	1	1,7
4	Pinheiro Machado 7.4 a 7.5.82	2 pastagens de <i>L. multiflorum</i> e <i>L. corniculatus</i> 1 resteva de arroz	<i>P. dilatatum</i>	280 novilhos	40	14,3	6	2,1
				170 novilhas	40	23,5	4	2,3
5	Pedro Osório 10.4 a 24.4.82	1 resteva de arroz	<i>P. notatum</i> <i>P. dilatatum</i>	240 vacas	3	1,25	0	0,0
				170 bezerros <sup>(d)</sup>	?	?	?	?

(a) As restevas de arroz eram campos onde 2 ou 3 anos antes tinha sido plantado o cereal. As demais pastagens tinham mais de 3 anos de implantadas e as espécies citadas são as que foram semeadas originalmente. Nos estabelecimentos 1, 3 e 4 as pastagens tinham boa disponibilidade de forragem e nos estabelecimentos 2 e 5 pouca disponibilidade.

(b) A espécie de *Paspalum* dominante é citada em primeiro lugar. Em todos os estabelecimentos foram encontradas discretas quantidades de *Paspalum urvillei*.

(c) Sobre um total de 992 animais observados em todos os estabelecimentos adoeceram 121 (12,8%), e morreram 18 (1,8%).

(d) Nestes estabelecimentos morreram 8 bezerros mas não foi possível confirmar se eles estavam afetados ou não.

e hemorragias na pia-mater. No animal nº 1, alguns neurônios da córtex cerebral apresentavam lesões similares às das células de Purkinje.

#### Reprodução experimental

A origem das sementes utilizadas, dose diária e total de planta administrada, observação dos primeiros sintomas, perda de peso e tempo de recuperação dos animais, apresentaram-se no Quadro 2.

No animal nº 4, os primeiros sinais se caracterizaram por discretos tremores musculares do pescoço e membros anteriores. Até o 10º dia esses foram os únicos sinais observados. A partir do 11º dia, 24 horas após haver sido aumentada a

dose, as manifestações clínicas agravaram-se marcadamente, observando-se tremores generalizados, ataxia com rigidez dos membros posteriores e hipermetria dos anteriores. Quando parado, o animal permanecia com os membros rígidos e abertos. Na necropsia, foram observados aumento do líquido cefalorraquidiano e hemorragias subdurais à altura das 3 primeiras vértebras cervicais. Foram apreciadas, através de exame histológico, alterações degenerativas das células de Purkinje similares às observadas nos casos de campo, discretas infiltrações perivasculares de células mononucleares e gliose focal em todos os cortes do SNC estudados.

Nos animais nº 5 e nº 6, os sinais clínicos foram observados 48 horas após o início do experimento, e eram similares

Quadro 2. Reprodução experimental da doença, origem e quantidade de sementes administradas, peso e perda de peso dos bovinos experimentais, observação dos primeiros sintomas e período de recuperação clínica após deixar de administrar a planta

Animal nº	Peso inicial (kg)	Origem das sementes	Dose diária (g)	Total de sementes administradas (kg)	Perda de peso (kg)	Observação dos primeiros sintomas	Recuperação clínica
4	55	Pelotas	100 (9 dias) 190 (8 dias)	1,470	10	6º dia	Sacrificado ao 13º dia
5	76	P. Machado	200 (4 dias)	0,800	9	3º dia	5 dias
6	91	Bagé	200 (4 dias)	0,800	7	3º dia	5 dias

aos observados no animal n<sup>o</sup> 4, porém mais marcados. Aumentaram consideravelmente do 2<sup>o</sup> ao 4<sup>o</sup> dia, permanecendo estáveis até o 7<sup>o</sup> dia. No 8<sup>o</sup> dia os sintomas começaram a diminuir e no 9<sup>o</sup> dia não se observava nenhum sintoma. Frequentemente, do 4<sup>o</sup> ao 7<sup>o</sup> dia, os animais permaneciam em decúbito lateral ou esternal, necessitando auxílio para se levantarem. Desde o aparecimento dos sintomas clínicos até o final do experimento, os três terneiros apresentaram tendência a se separar dos outros animais, permanecendo deitados por longos períodos.

### DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

As manifestações clínicas observadas, a presença de *Paspalum spp.* severamente infectado por *Claviceps paspali*, assim como a reprodução experimental da enfermidade com sementes infectadas, procedentes de 3 estabelecimentos onde ocorreu a doença, confirmam o diagnóstico de micotoxicose causada por esse fungo.

As manifestações clínicas, caracterizadas fundamentalmente por tremores musculares e ataxia, são similares às que ocorrem em outras doenças causadas por diversos agentes tremogênicos, pelo que devem ser levados em conta para o seu diagnóstico diferencial. Entre essas enfermidades, encontram-se as intoxicações por *Cynodon dactylon* (Riet Alvariza et al. 1977), *Phalaris spp.* (Hartley 1978) e *Lolium perenne* (Mortimer 1978). A intoxicação por *C. dactylon* ocorre no inverno, quando a gramínea está seca e é a forragem dominante (Riet Alvariza et al. 1977), existindo a possibilidade de que seja também produzida por um *Claviceps spp.* que parasita *C. dactylon* (Porter et al. 1974). A intoxicação por *Lolium perenne* seria produzida em consequência da absorção, por parte da planta, de toxinas produzidas no solo por fungos do gênero *Penicillium* (White et al. 1980). Essas toxinas tremogênicas são designadas como penitrem A e tremortins A, B e C, sendo também

encontradas em grãos e rações (Cysewski 1973). Não tem sido esclarecida a causa dos tremores observados na intoxicação por *Phalaris spp.*, que se caracteriza histologicamente pelo acúmulo de um pigmento, não definitivamente identificado, nos neurônios dos animais afetados (Hartley 1978).

Com relação à ocorrência da intoxicação por *C. paspali* no Rio Grande do Sul, chama a atenção o aparecimento de numerosos surtos no outono de 1982, já que, além dos 5 surtos descritos neste trabalho, a doença teria ocorrido em, pelo menos, 4 estabelecimentos no município de Herval, 12 em Bagé, 4 em Pedro Osório, 1 em São Lourenço, 1 em Canguçu, 1 em Rosário do Sul e 5 em Dom Pedrito (comunicações pessoais dos veterinários Walter Ott, João M. Cunha, Antonio Zambrano, Walnei Wienke, Alfredo Pinheiro e Vanderlei Tarouco Garcia). Em anos anteriores, a doença teria ocorrido em forma esporádica sendo mencionados alguns surtos no município de Bagé (Walter Ott, comunicação pessoal), e em Pinheiro Machado (João Carlos Mascarenhas, comunicação pessoal). Com relação a este ponto, Brasil (1982) refere-se ao aumento quantitativo das espécies do gênero *Paspalum* parasitadas por *C. paspali*, associado ao aumento no número de surtos da doença em Bagé e outros municípios.

Certamente, os surtos mencionados não representam a totalidade dos que realmente ocorreram no Rio Grande do Sul, porém, é evidente que a intoxicação, durante o outono de 1982, apresentou frequência e distribuição geográfica superiores às que poderiam ter ocorrido em anos anteriores.

Diversos fatores poderiam ter determinado o aumento da frequência da doença. A observação dos dados de temperatura, umidade e precipitação, de janeiro a abril, nos municípios de Bagé e Pelotas (Quadro 3), mostra, como única diferença com as normais da região, uma marcada diminuição das precipitações pluviais nos meses de março e abril. Em Portugal a enfermidade foi observada também em anos de estiagem (Lopes Frazão 1955), enquanto que em outros países a doença era

Quadro 3. Dados climáticos do período de janeiro a abril de 1982, nos municípios de Pelotas<sup>(a)</sup> e Bagé<sup>(b)</sup>, Rio Grande do Sul, e normas para os mesmos meses<sup>(c)</sup>

	Janeiro		Fevereiro				Março		Abril							
	Bagé	Pelotas	Bagé	Pelotas	Bagé	Pelotas	Bagé	Pelotas	Bagé	Pelotas						
	1982 Normal	1982 Normal	1982 Normal	1982 Normal	1982 Normal	1982 Normal	1982 Normal	1982 Normal	1982 Normal	1982 Normal						
Temperatura média (° C)	22,7	24,2	21,6	23,0	23,2	23,5	22,8	22,6	23,2	23,6	22,4	21,7	19,9	19,2	19,4	17,9
Umidade relativa média do ar (%)	66,0	64,4	75,5	77,3	74,0	67,4	80,0	80,4	75,0	71,7	79,5	82,2	73,0	74,8	77,4	82,7
Precipitação pluvial total (mm)	63,0	108,0	71,0	131,0	179,8	96,0	125,0	138,0	44,5	97,0	45,8	110,0	23,6	120,0	11,8	110,0

(a) Ministério da Educação e Cultura, UFPel, Estação Agro-climatológica: Boletim Agrometeorológico, meses de janeiro, fevereiro, março e abril de 1982.

(b) Ministério da Aeronáutica, Estação Meteorológica de Superfície, Bagé.

(c) Mota F.S., Biersdorf M.I.C. & Garcez J.R.B. 1981. Zoneamento agroclimatológico do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, vol. I. Normas agroclimatológicas. Circular n<sup>o</sup> 50, IPEAS, Min. Agricultura. 80 p.

observada em períodos úmidos e chuvosos (Hopkirk 1936, Goodwin 1967, Ehret et al. 1968, Blood et al. 1979).

Três fatores poderiam ter sido modificados pela estiagem, determinando o aparecimento da doença:

a) aumento da disponibilidade de sementes de *Paspalum spp.* como conseqüência de prováveis variações nas concentrações de frutificação da gramínea, em determinados períodos, em função das variações climáticas (M. Maia 1982, comunicação pessoal);

b) diminuição na disponibilidade de forragem verde, ocasionando maior consumo de estruturas reprodutivas (perfilhos com sementes), material que em condições de maior disponibilidade de forragem é ingerido em quantidades menores (M. Maia 1982, comunicação pessoal);

c) aumento da toxicidade das sementes de *Paspalum spp.*; a infecção de sementes de *Paspalum spp.* por *C. paspali* ocorre todos os anos no Rio Grande do Sul (G. Luzzardi 1982, comunicação pessoal), mas devemos considerar a possibilidade de maior taxa de infecção da gramínea, ou de mais alto conteúdo de toxinas em *C. paspali* durante o período em que ocorreram os surtos; a diminuição das precipitações pluviárias poderia ter exercido um efeito direto sobre *C. paspali*, favorecendo sua multiplicação e/ou sua toxicidade, porém, considerando que tanto *Fusarium heterosporum* como *Cerebella andropogonis* são fungos que normalmente parasitam *C. paspali* no Rio Grande do Sul (G. Luzzardi 1982, comunicação pessoal), existe também a alternativa de que a diminuição desse parasitismo, por efeito do clima, tenha levado à maior multiplicação de *C. paspali*.

*Paspalum dilatatum* é uma gramínea nativa, perene, ereta, subcespitosa, pode atingir até 80 cm de altura e floresce de novembro a março. *Paspalum notatum* é uma gramínea nativa, perene, rasteira, rizomatosa, pode atingir até 40 cm de altura e floresce de novembro a abril (Araújo 1971). Ambas apresentam característica de resistência, bom valor nutritivo e adaptabilidade a diversos tipos de solos que as fazem desejáveis como forrageiras. Elas aparecem como flora de sucessão após a implantação de pastagens e outros cultivos. Esta última característica explica a ocorrência da intoxicação em restingas de arroz, de anos anteriores e em pastagens com mais de 2 anos de implantadas. Como acontece no Uruguai (Riet Alvariza et al. 1976), a doença poderia também ocorrer em campos nativos de boa fertilidade.

Um fato importante a ser destacado é que nos estabelecimentos onde predominava *P. dilatatum* e em um onde predominava *P. notatum* as pastagens tinham boa disponibilidade de forragem, evidenciando que a lotação relativamente baixa empregada possibilitou a produção de sementes da gramínea; pelo contrário, nos estabelecimentos 2 e 5, nos quais predominava *P. notatum*, existia pouca disponibilidade de forragem. Essas observações evidenciam que o fato mencionado de que as lotações altas evitariam a sementação e conseqüentemente a doença, no caso de *P. dilatatum* (Simms 1945, Riet Alvariza et al. 1976), não é totalmente válida para o caso de *P. notatum*. Isto aconteceria devido a que *P. notatum*, por ser uma planta rasteira, frutifica mesmo em condições de pastejo intensivo. Pela observação dos dados de frequência, pode apreciar-se que a doença afeta indistintamente bovinos de qualquer categoria. A morbidade, que variou entre 1% e 44%, depende aparentemente da quantidade de escleródios de *C. paspali* ingeridos, o que já foi discutido anteriormente, e da possibilidade de evitar que os animais continuem ingerindo o agente causal.

O rápido aparecimento das manifestações clínicas, 48 horas após iniciada a administração de *C. paspali*, indica que, depen-

dendo da disponibilidade de escleródios de *C. paspali* nas pastagens, os sintomas podem aparecer em períodos muito curtos após a introdução dos animais; com relação a este fato, Simms (1945) constatou sintomas após 4 ou 5 dias de pastejo, enquanto Goodwin (1965) e Lopes Frazão (1955) observaram animais doentes após 24 horas de pastejo.

A mortalidade é baixa, devido provavelmente à rápida recuperação clínica observada, tanto em casos de campo como em animais experimentais, quando o agente é removido da dieta. Apesar disso, um fato importante a ser considerado nas perdas econômicas ocasionadas pela doença é a marcada perda de peso observada nos animais experimentais, que também deve ocorrer nos casos espontâneos. Essas perdas de peso se produziriam provavelmente por duas causas, a diminuição no consumo de alimentos, e o maior gasto de energia como conseqüência dos tremores constantes que os animais apresentam.

Com relação à patologia observada, o aumento de líquido cefalorraquidiano é a única alteração sistematicamente constatada em descrições anteriores da doença (Riet Alvariza et al. 1976; Blood et al. 1979). Pelo contrário, as hemorragias subdurais observadas na medula de 3 dos 4 animais necropsiados, constituem uma alteração que somente tinha sido mencionada anteriormente em Portugal, em cérebros de animais intoxicados cronicamente (Lopes Frazão 1955). A observação destas lesões não indicam necessariamente que sejam produzidas pelas toxinas de *C. paspali*, já que poderiam ser devidas a traumatismos ocorridos como conseqüência dos sintomas clínicos. As únicas lesões histológicas encontradas em todos os animais foram as alterações degenerativas das células de Purkinje. Alterações similares nessas células e esferóides axonais na capa granular são observadas na intoxicação por *Lolium perenne*, não sendo interpretadas como específicas da intoxicação e sim como uma provável conseqüência da injúria ou anoxia sofrida pelos neurónios durante as convulsões (Mason 1968). Essa semelhança nas alterações detectadas na intoxicação por *C. paspali*, *L. perenne* e toxinas produzidas por *Penicillium spp.* foi observada anteriormente por Mortimer (1978). Alterações distróficas de neurónios e células da glia e distúrbios circulatórios foram descritos na intoxicação experimental por *C. paspali* em bovinos, eqüinos, muare e suínos (Tatishvili 1958).

Por ser desconhecido um tratamento eficiente para a doença, as únicas soluções recomendáveis para o seu controle são as que evitem que os animais continuem ingerindo o agente causal. Isto pode ser realizado, no caso de *P. dilatatum*, mediante a roçagem dos poteiros que, para evitar cortar o resto da forragem, deve ser feita a 40 cm de altura; quando se trata de *P. notatum*, que é uma planta rasteira, a roçagem deve ser realizada a 20 cm de altura, podendo não ser eficiente nos casos em que a gramínea, por ter sofrido um pastejo intensivo, está frutificando a menor altura. No caso de o produtor dispor de pastagens não contaminadas por *C. paspali*, os animais podem ser retirados dos poteiros onde está ocorrendo a doença, transferindo-se todos os animais ou parte deles, incluindo os doentes. A diminuição da lotação acarretaria um menor consumo de sementes. Como a maioria das mortes se produz aparentemente como conseqüência de acidentes, deve evitar-se a

colocação dos animais em poteiros onde existam alterações no relevo do terreno, ou áreas pantanosas.

A única possibilidade de profilaxia da doença é a de diminuir a frutificação das pastagens mediante pastoreio intensivo, ou roçagem dos poteiros nos meses de fevereiro e março. Como foi discutido anteriormente, esta medida pode não ser eficiente quando se trate de *Paspalum notatum*.

É evidente a necessidade de se continuar estudando, durante os próximos anos, os aspectos epidemiológicos da doença no Rio Grande do Sul. No caso de continuar ocorrendo a intoxicação com frequência e distribuição geográfica similares às do ano de 1982, poderia ser estudada a possibilidade de se desenvolver um sistema de previsão de surtos baseado em observações das pastagens e/ou interpretações de dados climáticos.

*Agradecimentos.*- Agradecemos aos Eng. Agrônomos Manoel Maia e Gilberto Luzzardi, pela orientação proporcionada em aspectos relacionados a pastagens e fitopatologia, respectivamente.

### REFERÊNCIAS

- Araújo A.A. 1971. Principais gramíneas do Rio Grande do Sul. Sulina, Porto Alegre. 255 p.
- Bianchi P., Pugliese A., Tonolo A. & Valfré F. 1965. La tossicità degli sclerozi naturali di *Claviceps paspali* Stev. et Hall su alcuni animali domestici. Zooprofilassi 2: 79-98.
- Blood D.C., Henderson J.A. & Radostitis O.M. 1979. Veterinary medicine. 5th edition. Balliere Tindall, London. 1135 p.
- Brasil A.G. 1982. Problemas com pasto de grande utilidade. Correio do Povo Rural, Porto Alegre, 14 de maio de 1982, p. 7.
- Brown H.B. 1916. Life History and poisonous properties of *Claviceps paspali*. J. Agric. Res. 7: 401-406.
- Castiglioni M., Moyna P. & Tubio R. 1979. Alcaloides del *Claviceps paspali* Stev. et Hall obtenidos del *Paspalum dilatatum* Poir. Veterinaria, Uruguai, 15: 133-136.
- Cysewski S.J., 1973. *Paspalum staggers* and tremorgen intoxication in animals. J. Am. Vet. Med. Ass. 163: 1291-1292.
- Dollahite J.W. 1963. Ergotism produced by feeding *Claviceps cinerea* grazing on Tobosagrass (*Hilaria mutica*) and Galletagrass (*Hilaria jamesi*). South-western Veterinarian 16: 295-297.
- Ehret W.J., Adelaar T.F. & Kriek N.P.J. 1968. An outbreak of *Claviceps paspali* poisoning (*Paspalum staggers*) in beef cattle. J.S. Afr. Vet. Med. Ass. 39: 103-106.
- Goodwin D.E. 1967. Ergot poisoning of cattle grazing dallisgrass. J. Am. Vet. Ass. 151: 204-205.
- Grayson A.R. 1941. *Paspalum* ergotism in cattle. Journal of Agriculture, Victoria, 39: 441-446.
- Grisolía J.O. & Vallejo L.C. 1970. Micotoxicosis por *Claviceps paspali*. Revta Med. Vet. 51: 97-102.
- Gupta I. & Bhide N.K. 1967. Study of protective action of some CNS depressants in experimental *Paspalum scrobiculatum* poisoning. Ind. Vet. J. 44: 786-793.
- Hartley W.J. 1978. Chronic *Phalaris* poisoning or *Phalaris* staggers, p. 391-393. In: Keeler R.F., Van Kampen K.R. & James L.F. (ed.) Effects of poisonous plants on livestock. Academic Press, N.York.
- Hopkirk C.S.M. 1936. *Paspalum* staggers. N.Z.J. Agric. 53: 105-108.
- Lopes Frazão T. 1955. Algumas considerações sobre a embriaguez dos bovinos no vale do Sado. Bolm Pecuário, Portugal, 23: 29-42.
- Mason R.W., 1968. Axis cylinder degeneration associated with Ryegrass staggers in sheep and cattle. Aust. Vet. J. 44: 428.
- Mortimer P.H. 1978. Perennial Ryegrass staggers in New Zealand, p. 353-361. In: Keeler R.F., Van Kampen K.R. & James L.F. (ed.) Effects of poisonous plants on livestock. Academic Press, N.York.
- Porter J.K., Bacon C.W. & Robbins R. 1974. Major alkaloids of a *Claviceps* isolated from Bermuda grass. J. Agric. Food Chem. 22: 838-841.
- Portugal M.A.S.C., Domingues R.V., Saliba A.M., Baldassi L. & Malavolta V.M.A. 1979. Ocorrência de ergotismo em bovinos no Estado de São Paulo. Biológico, São Paulo, 45: 123-130.
- Ragonese A.E. 1955. Plantas tóxicas para el ganado en la region central argentina. Revta Fac. Agronomia de la Plata 31: 133-336.
- Riet Alvariza F., Riet-Correa F., Corbo M., Perdomo E. & McCosker P. 1976. Síndrome nervioso en bovinos causado por el hongo *Claviceps paspali*. Veterinaria, Uruguai, 12: 82-89.
- Riet Alvariza F., Riet-Correa F., Corbo M., Meny H., Sallua S. & McCosker P., 1977. Síndrome nervioso en bovinos causado por la ingestión de pasto Bermuda (*Cynodon dactylon*). Veterinaria, Uruguai, 12: 89-95.
- Simms B.T. 1945. Dallis grass poisoning. Auburn Vet. 1: 64-65.
- Tatishvili P.S. 1958. Pathology of experimental *Claviceps paspali* poisoning on livestock. Trud. Vsesoyuz. Inst. eksp. Vet. 20: 226-237. (Vet. Bull. 28, Abstr. 3383)
- White E.P. Smith G.S., Menna M.E. & Mortimer P.H. 1980. Absorption and translocation of *Penicillium* by Ryegrass plants. N.Z. Vet. J. 28: 123-124.

# HISTOLOGICAL INVESTIGATIONS OF "CARA INCHADA" IN CATTLE<sup>1</sup>

KAROLINE SEIFERT<sup>2</sup>, PETER WALTER<sup>2†</sup>, JÜRGEN DÖBEREINER<sup>3</sup>  
AND IMOGEN RÜSSE<sup>2</sup>

**SINOPSE.**- Seifert K., Walter P., Döbereiner J. and Rüsse I. 1983. [ **Estudos histológicos da doença peridentária "cara inchada" dos bovinos.** ] Histological investigations of the periodontal disease "Cara inchada" in cattle. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 3(2): 67-70. Institut f. Tieranatomie, Universität München, Veterinärstr. 13, D-8000 München 22, Alemanha Ocidental.

Foram realizados estudos histológicos da gengiva e do periodôncio interdentário de oito bezerros afetados pela "cara inchada" e de oito outros sadios, a fim de verificar possíveis alterações do colágeno nessa doença. As alterações observadas consistiram em degeneração e perda das camadas superficiais dos epitélios marginais externo e interno da gengiva, bem como invasão da lâmina própria, que estava infiltrada principalmente por granulócitos eosinófilos, pelo epitélio juncional. O colágeno nas áreas afetadas encontrava-se edemaciado, e o colágeno tipo I estava menos denso que o tecido conjuntivo circunvizinho, lembrando o das espécimes de controle. No osso alveolar foram observadas alterações osteofibróticas. As relações de causa e efeito, entre as alterações no epitélio, tecido conjuntivo e osso alveolar, são discutidas em relação às reações alérgicas, à integridade e ao metabolismo do colágeno e à osteodistrofia fibrosa. O fato de que o colágeno, nas partes não infiltradas, estava normal tanto estruturalmente como em relação às propriedades tintoriais, leva a concluir que as alterações do colágeno, na "cara inchada", são de natureza secundária.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Doença peridentária, "cara inchada", bovinos, histologia, colágeno, gengiva periodôncio.

**ABSTRACT.**- With the aim of determining possible collagen changes in Cara inchada, investigations of gingiva and interdental periodontium of eight diseased and eight healthy calves were performed. Findings included degeneration and loss of superficial layers of marginal and crevicular epithelia and proliferation of the junctional epithelium into the lamina propria, which was infiltrated mainly by eosinophilic granulocytes. The collagen in affected areas was edematous and collagen I was less dense than the surrounding connective tissue, which resembled that of the control specimens. Osteofibrotic changes were observed in the alveolar bone. Cause and effect relationship between the changes in epithelium, connective tissues and alveolar bone are discussed with reference to allergic reactions, the integrity and metabolism of collagen and osteodystrophia fibrosa. The fact that collagen in non-infiltrated parts displayed normal structural and staining properties leads to the conclusion that the collagen changes in Cara inchada are of a secondary nature.

**INDEX TERMS:** Periodontal disease, Cara inchada, cattle, histology, collagen, gingiva, periodontium.

## INTRODUCTION

Cara inchada is a periodontal disease occurring in pure bred and mixed Zebu cattle in West Central Brazil. Clinical, histopathological (Döbereiner et al 1974) and radiographical (Nunes et al. 1979), as well as other investigations, have not yet revealed the etiology of the disease. According to the results of some field experiments, alimentary factors seem to play a role (Döbereiner et al. 1975, 1976, Rosa et al. 1976). It appears very likely that the structure and composition of the soil are important (Döbereiner 1982, pers. comm.), the significance possibly lying in the specific population of microorganisms inhabiting the soil (Page & Schroeder 1982). The initial lesion takes place during eruption of teeth, possibly due to impaired physiologic regeneration of the periodontal connective tissue (Döbereiner et al. 1974). On the other hand, Nunes et al. (1979), based on the results of their investigations, suggested the disease to be an osteodystrophia fibrosa of nutritional origin.

The possibility exists that primary collagen changes play a pathogenic role in Cara inchada. Therefore histopathological studies of the connective tissue of the gingiva and periodontal ligament were performed.

## MATERIALS AND METHODS

Material was obtained from eight Cara inchada diseased pure and mixed bred Zebu cattle between one and four months of age. Eight healthy

<sup>1</sup> Accepted for publication on March 7, 1983.

<sup>2</sup> Institut f. Tieranatomie der Universität München, Veterinärstr. 13, D-8000 München 22, W.- Germany.

<sup>3</sup> Unidade de Pesquisa de Patologia Animal, EMBRAPA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23460, Brazil.

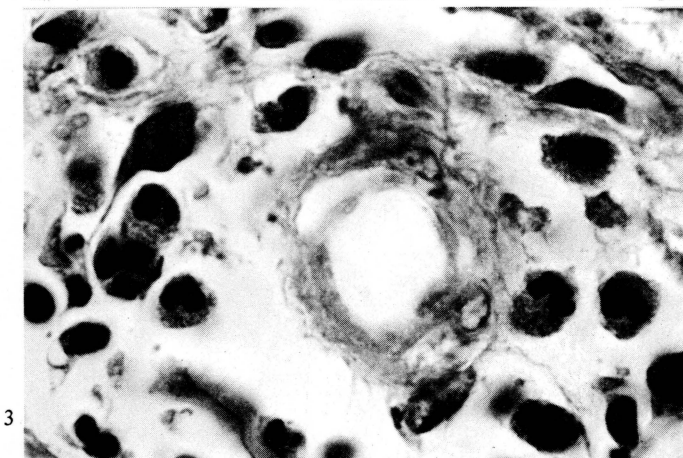
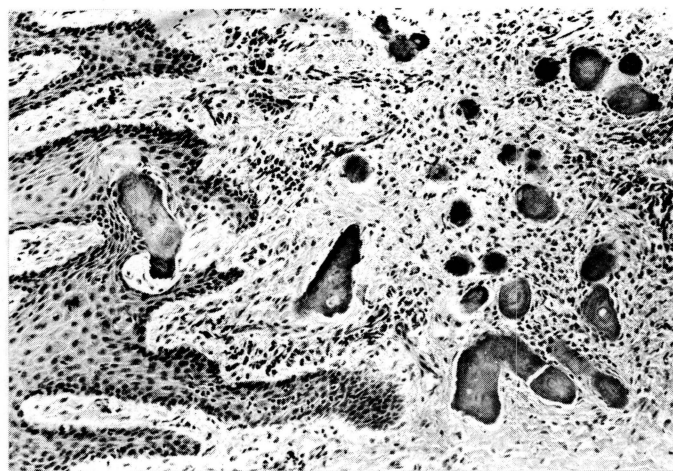
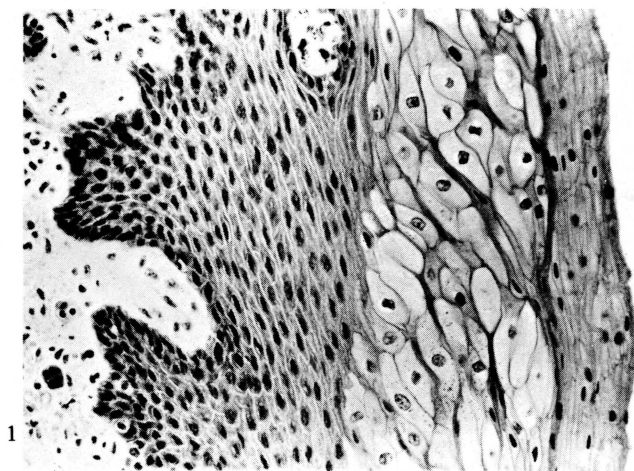


Fig. 1. Swelling of the prickle cell layer (stratum spinosum) in the marginal epithelium. H. E., Obj. 25.

Fig. 2. Calcifications in the proliferated basal epithelial cells and the infiltrated connective tissue. H. E., Obj. 10.

Fig. 3. Eosinophilic granulocytes in the infiltrated connective tissue. H. E., Obj. 100.

Fig. 4. Osteofibrotic changes in the interdental alveolar septum. Picrosirius Red, Obj. 10.

calves were used as control animals. Investigations concerned mainly the interdental tissue between the second and third maxillary premolars (Pd<sub>3</sub> and Pd<sub>4</sub> resp.). In most cases the interdental papilla between Pd<sub>2</sub> and Pd<sub>3</sub> as well as that between Pd<sub>4</sub> and M<sub>1</sub> were also examined. Specimens were fixed in 10% formaldehyde or 6% glutardialdehyde (in 0,15 M Na-cacodylate buffer + 6% saccharose at pH 7,3). After washing in in - and decreasing concentrations of alcohol, the samples where the soft periodontal tissues remained attached to the tooth and alveolar bone were decalcified in 7% nitric acid. They were hung in lithium sulfate for 24 hours to prevent connective tissue swelling before being washed and dehydrated in alcohol. The decalcified samples and the gingival material was embedded in paraplast (Lancer) and cut at 7 - 8 μm, partially serially, and stained as follows: haemalaun-eosin (non-specific), light-green according to Goldner (connective tissue), resorcin-fuchsin (elastic fibres) (Romeis 1968) picrosirius-red (differentiation of collagen types) (Sweat et al. 1964) and peracetic acid-aldehyde-fuchsin-halmi (Fullmer & Lillie 1958).

After fixation with glutardialdehyde, the samples were washed in cacodylate buffer (as above), dehydrated in acetone, embedded in Araldite<sup>R</sup> (Serva) and polymerized before sectioning at 1-2 μm and staining with methylene blue. Details of the methods are described earlier (Seifert 1983).

## RESULTS

In all specimens of the eight diseased calves pathological changes were found. The changes concerned the epithelium, the

connective tissue and the alveolar bone. The prickle layer (stratum spinosum) of the oral and marginal epithelium showed swelling of the cells, the intercellular spaces and intercellular projections disappearing (Fig. 1). This occurred especially at the transition of the cornified oral epithelium to the non-cornified crevicular epithelium. In some cases, the superficial layers, seldom the entire epidermis, was missing while the adjacent junctional epithelium showed finger-like proliferations into the underlying connective tissue. Here some calcifications (identified by Von Kossa's stain) were observed (Fig. 2). The lamina propria was loosely structured, edematous and infiltrated by predominantly eosinophilic granulocytes (Fig. 3). The alveolar bone was also pathologically altered. Rarefaction and fibrous repair of lamellae was observed in the central part of the interdental alveolar septum as well as the interradicular bone (Fig. 4). Thus osteolytic changes were not restricted to the bone adjacent to the inflammatory changes of the gingiva and marginal periodontal ligament (PDL). The periodontal space was not widened, the fibres of the PDL being of normal length and structure, penetrating the remaining alveolar bone.

The results of differential staining of collagen types I and III by the picrosirius plus polarization technique revealed

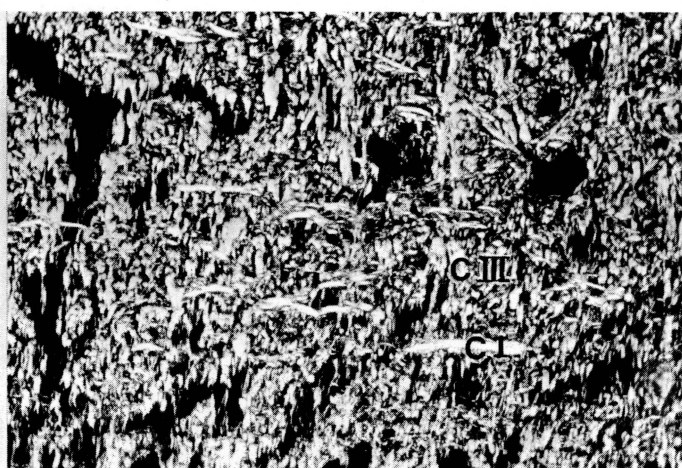


Fig. 5. Collagen I fibres in gingiva. Picrosirius Red plus Polarization, Obj. 10.

a) Healthy gingiva: The fine network of collagen III (C III) fibres underly the thick bundles of bright collagen I (C I) fibres.

b) Collagen I fibres showing loss of integrity and discontinuity along their course in Cara inchada induced inflammation, collagen III fibres being more prominent.

that collagen changes occurred in inflammatory regions. Here the integrity of collagen I, which was seen as thick bundles of strongly birefringent yellow, red or orange fibres, was lost: they were partly disintegrated and few bundles could be followed along their course. Due to the less dense structure of the usually predominating collagen type I, the network of fine, less birefringent green collagen III fibres could be more readily identified. In black and white photomicrographs these two fibre types could be differentiated by their differing diameters. Also, the thick bundles of collagen I fibres were more strongly birefringent and therefore showed up as thick white bundles in contrast to the less birefringent thinner collagen III fibres (Fig. 5a and b). It must be noted, that the non-infiltrated areas of diseased specimens resembled the control animals. There were differences in the transition between healthy and inflamed connective tissue. In some cases, the thick strongly birefringent collagen I fibres approached the aggregations of lymphocytes or granulocytes without showing looseness of structure or signs of edema in the vicinity of these leucocytic cell nests – in fact these seemed to be embedded in "healthy connective tissue". On the other hand, the transition of the normal connective tissue was very gradual when the cellular infiltrate was more diffuse and without aggregations. Here the thick bundles of collagen I were quite sparse and collagen III more prominent.

## DISCUSSION

The histological features of healthy Brazilian and European cattle did not reveal a race disposition of Zebu cattle for the disease. Taking into account the gross anatomical and functional characteristics of ruminant dentition, it was found that the structure and arrangement of collagen, elastic and oxytalan fibres in the periodontium of calves were similar to that of man and other mammals (Seifert 1983).

The pathological findings concern the junctional and associated epithelia, signs of inflammation in the propria and

osteofibrotic degeneration of alveolar bone. All of these are involved with the loss of periodontal attachment in periodontitis (Page & Schroeder 1982).

The swelling of the cells in the prickle cell layer of the marginal and crevicular epithelia probably leads to the loss of the superficial epithelial layers as observed in more advanced cases of Cara inchada. These changes are unlikely to be due to endogenous factors, as one would then expect a generalized involvement of the mucous membranes or the skin – these have not been found (Döbereiner et al. 1974, Döbereiner 1982, pers. comm.) The proliferation of the junctional epithelium into the infiltrated connective tissue can be interpreted as a reaction to the inflammatory stimulus (Müller & Kirk 1976). They took the form of finger-like projections. All these changes in the epithelium impede its effectiveness as a barrier to exogenous toxic and noxious agents (Müller & Kirk 1976), which could cause the inflammatory changes in the underlying connective tissue. Although polymorphonuclear neutrophils, macrophages and varying numbers of lymphocytes are usually found in healthy gingiva (Schumacher & Schmidt 1976, Stall & Slavkin 1972), the occurrence of aggregations of leucocytes and lymphfollicles as seen in Cara inchada is related to gingivitis and periodontitis (Attström et al. 1975, Soames & Davies 1977). The predominance of eosinophilic granulocytes in Cara inchada indicates an allergic reaction, the significance of which remains to be investigated. The role of specific microorganisms in the etiology of the disease is under investigation (Blobel & Döbereiner 1982, pers. comm.).

The intriguing question that arises when looking for the initial lesion in Cara inchada is why these are restricted to the interdental papilla between the 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> deciduous premolars (Pd<sub>3</sub> and Pd<sub>4</sub> resp., Schummer et al. 1982) in young calves and affect the erupting molars in older cattle (Döbereiner et al. 1974). This led to the hypothesis that primary connective tissue changes could cause loss of tooth attachment during eruption. A collagen-pathogenic factor such as  $\beta$ -amino propionitrile

(a lathyrogen) leads to changes in the structure and organization of the PDL fibres as described by Thomas (1965) and Berkovitz (1972) in the rat. Morphological changes of the PDL were not observed in the calves investigated (Seifert 1983).

Collagen changes were observed in the inflamed gingiva using the picosirius plus polarization technique, which allows the differentiation of collagen types I and III (Carrasco et al. 1981, Junqueira et al. 1978). The finding that collagen I fibres are less dense and show loss of integrity while collagen III fibres become more conspicuous in inflammatory regions, could be explained by the local control of collagenolysis (Rose & Robertson 1977) and by the specific collagenase I production by the granulocytic infiltrate (Kleinman et al. 1981). On the other hand, since collagen type III appears to be more rapidly synthesised than type I (Wang 1982), its predominance could indicate a phase of repair. A general loss of birefringence in inflamed connective tissue and a change in staining properties as described by Melcher (1967) were not observed. The local loss of fibre integrity could also be due to a deficiency in fibronectin (Baum & Wright 1980; for a review see Kleinman et al. 1981). Changes in the extracellular fluids and the presence of certain enzymes can cause a decrease in the fibronectin content (Garant et al. 1982). This could be explained by the defective epithelial barrier although the epidermal degenerative changes could, for their part, be a reaction to the alterations in the supporting tissue.

The involvement of the alveolar bone seemed to be of a generalized nature. Some investigators have obtained results indicating osteodystrophia fibrosa (Nunes et al. 1979) although the nutritional deficiency of the animals studied was possibly due to the pain and loss of teeth during a relatively long period of illness. In this case, the osteodystrophic changes would be secondary. We observed osteoclastic processes in the central region of the alveolar septum, while the tooth orientated bone lamellae which are penetrated by the fibres of the PDL remained intact; the periodontal space was therefore not widened. In earlier investigations it was found that an osteoclastic process at inflammatory site was "compensated" for by an osteoblastic process on the buccal or lingual aspect (Döbereiner et al. 1974). It was concluded that the bulging of the maxillae was not due to an overall increase in bone thickness, as would be the case in osteodystrophia fibrosa.

The results of these studies on the collagen of Cara inchada diseased cattle do not provide support for the hypothesis that primary collagen changes play a pathogenetic role in Cara inchada.

## REFERENCES

- Attström R., Graf-De Beer M. & Schroeder H. E. 1975. Clinical and histological characteristics of normal gingiva in dogs. *J. Periodont. Res.* 10: 115-127.
- Baum B. J. & Wright W. E. 1980. Demonstration of fibronectin as a major extracellular protein of human gingival fibroblasts. *J. Dent. Res.* 59(3): 631-637.
- Berkovitz B.K.B. 1972. The effect of preventing eruption on the proliferative basal tissues of the rat lower incisor. *Arch. Oral Biol.* 17: 1279-1288.
- Carrasco F. H., Montes G. S., Krisztan R. M., Shigihara K. M., Carneiro J. & Junqueira L.C.U. 1981. Comparative morphologic and histochemical studies on the collagen of vertebrate arteries. *Blood Vessels* 18: 296-302.
- Döbereiner J., Inada T. & Tokarnia C. H. 1974. "Cara inchada", doença periodontária em bovinos. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.*, 9: 63-85.
- Döbereiner J., Chaves J. A., Rosa I. V. & Houser R. H. 1975. Efeito da transferência de bovinos com "cara inchada" (doença periodontária) para pastos de região indene. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.*, 10: 99-103.
- Döbereiner J., Rosa I. V. & Lazzari A. 1976. "Cara inchada" (doença periodontária) em bezerros mantidos em pasto de *Panicum maximum*. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.*, 11: 43-47.
- Fullmer H. M. & Lillie R. D. 1958. The peracetic acid-aldehyde fuchsin stain. *J. Histochem. Cytochem.* 6: 391.
- Garant P. R., Cho M.-I. & Cullen M. R. 1982. Attachment of periodontal ligament fibroblasts to the extracellular matrix in the squirrel monkey. *J. Periodont. Res.* 17: 70-79.
- Junqueira L.C.U., Cossermelli W. & Brentani R. R. 1978. Differential staining of collagen type I, II and III by sirius red and polarization microscopy. *Arch. Histol. Jap.* 41: 267-274.
- Kleinman H. K., Klebe R. J. & Martin G. R. 1981. Role of collagenous matrices in the adhesion and growth of cells. *J. Cell. Biol.* 88: 473-485.
- Melcher A. H. 1967. Some histological and histochemical observations on the connective tissue of chronically inflamed human gingiva. *J. Periodont. Res.* 2: 127-146.
- Muller G. H. & Kirk R. W. 1976. *Dermatohistopathology*, p. 46-64. In: *Small animal dermatology*. 2nd ed. W. B. Saunders, Philadelphia.
- Nunes V. A., Viana J. A. C., Nunes I.J., Carvalho A. U., Santos B. M., Ribeiro H. M. & Teixeira T. 1979. Doença periodontal ("cara inchada") em bovinos do Estado de Goiás. I. Aspectos morfológicos. *Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte*, 31: 283-296.
- Page C. P. & Schroeder H. E. 1982. Periodontitis in man and other animals. A comparative review. Karger, Basel.
- Romeis B. 1968. *Mikroskopische Technik*. R. Oldenburg Verlag, München.
- Rosa J. V., Carvalho J. C., Houser R. H. & Döbereiner J. 1976. Influência de ração balanceada sobre a "cara inchada" (doença periodontária) de bezerros. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.*, 11: 59-63.
- Rose G. G. & Robertson P. B. 1977. Collagenolysis by human gingival fibroblast cell lines. *J. Dent. Res.* 56: 416-423.
- Schumacher G. -H. & Schmidt H. 1976. *Anatomie und Biochemie der Zähne*. VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin.
- Schummer A., Nickel R., Habermehl K.-H., Vollmerhaus B. & Wilkins H. 1982. *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere*. Band II, Eingeweide. Paul Parey, Berlin.
- Seifert K. A. 1983. Zur Morphologie des Parodontiums beim Kalb: Vergleichende Studien zu der in Brasilien auftretenden Erkrankung "Cara Inchada". *Med. Vet. Diss.*, Munich.
- Soames J. V. & Davies R. M. 1977. Intracellular collagen fibrils in early gingivitis in the beagle dog. *J. Periodont. Res.* 12: 378-386.
- Stahl S. S. & Slavkin H. C. 1972. Development of gingival crevicular epithelium and periodontal disease. In: Slavkin H. C. & Bavetta L. A. (ed.). *Developmental aspects of oral biology*. Academic Press, New York.
- Sweat F., Puchtler H. & Rosenthal L. 1964. Sirius Red F<sub>3</sub>BA as a stain for connective tissue. *Arch. Pathol.* 78: 69-72.
- Thomas N. R. 1965. The effect of inhibition of collagen maturation on eruption in rats. *J. Dent. Res.* 44: 1159. (Abstract)
- Wang H. M. 1982. Detection of lysosomal enzymes derived from pig periodontal ligament fibroblasts and their ability to digest collagen fibrils and proteoglycan. *Arch. Oral Biol.* 27: 715-720.