

ISSN 0100-736X

Volume 2 Número 3

Jul/Set 1982

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Brazilian Journal of Veterinary Research



Revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

Editora: Armando Amorim Publicidade, Rio de Janeiro, Brasil

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 dos 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 Barboza 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.

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 editora 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. Arte: Cristina Amorim Gonçalves. Composição: Sônia Moreira Bernardo. Diagramação: Kleverson Santiago Cardoso.

Aos interessados em receber a revista solicitamos preencher o cupom inserido neste exemplar, e remetê-lo à firma distribuidora (*All subscription orders should be sent to*): Direcional Mala Direta Ltda, Travessa Soledade 24, Rio de Janeiro, RJ 20270, Brasil (tel.: 228-4363 e 243-0194). Diretoria: Carlos Ishikawa. Secretária: Lenita Ortiz Rodrigues da Silva. Cadastro: Paulo Cesar Silvério Pires. Distribuição: Carlos Alberto Ferreira.

A correspondência referente à publicação de trabalhos e a outros assuntos técnico-científicos editoriais deve ser endereçada a (*All editorial communications, including typescripts, should be addressed to*): Dr. Jürgen Döbereiner, Revista "Pesquisa Veterinária Brasileira", 23460 Seropédica, Rio de Janeiro (Brazil).

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

SOLICITAMOS PERMUTA. Pedimos escrever à Biblioteca da Embrapa - Patologia Animal, Km 47, 23460 Seropédica, Rio de Janeiro.

EXCHANGE OF JOURNALS IS WELCOMED. Please, write to the Library of Embrapa - Patologia Animal, Km 47, 23460 Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil.

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

Editora: Armando Amorim Publicidade, Rio de Janeiro, Brasil

Volume 2

Julho/Setembro 1982

Número 3

SUMÁRIO

Contagem linfocitária e anticorpos contra o vírus da leucose enzoótica bovina em rebanhos do Rio de Janeiro. <i>M.I.C. Ferreira, C.H. Romero & C.A. Rowe</i>	99
Intoxicação experimental por <i>Plumbago scandens</i> (Plumbaginaceae) em bovinos. <i>C.H. Tokarnia & J. Döbereiner</i>	105
Avaliação comparativa entre diferentes métodos de administração de vacina preparada com a estirpe vacinal LaSota do vírus da doença de Newcastle. <i>A.C. Paulillo, A.A. Pinto, J. Ariki, A. Berchieri Jr. & T. Toyoshima</i>	113
Intoxicação experimental por <i>Palicourea grandiflora</i> (Rubiaceae) em coelhos. <i>J. Döbereiner & C.H. Tokarnia</i>	121
Infecção com o vírus da leucose enzoótica bovina em um lote de vacas produtoras de leite importadas do Uruguai. <i>C.E. Kantek-Navarro, E.R. Kruger & V.R. Welte</i>	125
Resumos 113-137	127

CONTENTS

Absolute lymphocyte counts and antibodies against enzootic bovine leukosis virus in dairy herds of Rio de Janeiro. <i>M.I.C. Ferreira, C.H. Romero & C.A. Rowe</i>	99
Experimental poisoning of cattle by <i>Plumbago scandens</i> (Plumbaginaceae). <i>C.H. Tokarnia & J. Döbereiner</i>	105
Comparative evaluation of different administration methods of a vaccine prepared with the LaSota strain of Newcastle disease virus. <i>A.C. Paulillo, A.A. Pinto, J. Ariki, A. Berchieri Jr. & T. Toyoshima</i>	113
Experimental poisoning by <i>Palicourea grandiflora</i> (Rubiaceae) in rabbits. <i>J. Döbereiner & C.H. Tokarnia</i>	121
Enzootic bovine leukosis virus infection in cows imported from Uruguay. <i>C.E. Kantek-Navarro, E.R. Kruger & V.R. Welte</i>	125
Abstracts of current Brazilian veterinary science literature (in Portuguese)	127

ISSN 0100-736X

Pesq. Vet. Bras., Rio de Janeiro, v.2, n.3, p.99-132, jul./set. 1982

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)

VII Simpósio Internacional da Associação Mundial de Veterinários Microbiologistas, Imunologistas e Especialistas em Doenças Infecciosas, Barcelona, Espanha, 18-21.10.1982

(Informações: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, Supercenter Venâncio 2000, Bloco 60, Sala 314, Brasília, DF 70733)

XVIII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Centro de Convenções da CITUR, Balneário de Camboriú, Santa Catarina, 18-23.10.1982

(Secretaria: Rua Anita Garibaldi 19, sala 503, Cx. Postal D-35, Florianópolis, Santa Catarina 88000. Fone 23-2133. Presidente da Comissão Organizadora: Dr. Olices Osmar Santini. Presidente da Comissão Científica: Dr. Alfeu A.H. Beck)

I Curso Intensivo Internacional sobre Mífases Tropicais, organizado pelo Centro Internacional para Mífases Tropicais, Curso de Pós-Graduação em Parasitologia Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), realizar-se-á na UFRRJ, no período de 1-18.10.1982

(Coordenador: Prof. Gonzalo Efrain Moya Borge, Centro Internacional para Mífases Tropicais, UFRRJ, Km 47, Cx. Postal 745-20, Seropédica, Rio de Janeiro 23460. Fone 788-2300, ramal 595)

24.º Colóquio Internacional do Instituto de Medicina Tropical Príncipe Leopoldo sobre "Produção Animal Tropical e o Benefício do Homem", Antuérpia, Bélgica, 17-18.12.1982

(Organização do colóquio está a cargo do Prof. Dr. Ir. J. Hardouin, Instituto de Medicina Tropical Príncipe Leopoldo, Colóquio Internacional de 1982, Nationalestraat 155, B-2000 Antuérpia, Bélgica. Informações mais detalhadas encontram-se em Pesquisa Veterinária Brasileira 2(1) jan./mar. 1982, página 16)

9.º Congresso Panamericano de Veterinária e Zootecnia, Caracas, Venezuela, 1-6.3.1983

(Secretaria: Apartado 76.929, Caracas 1-070-A, Venezuela, fones 21-3584 e 283-1595; São Paulo: Léa S. Mathias, fones 255-2576 e 258-2233)

9.º Congresso Latino-Americano de Microbiologia,

12.º 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)

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)

RESUMOS

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

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

DOENÇAS INFECCIOSAS

113. Schonhofen C.A. & Garcia R.G.F. 1981. **Onfalite aspergílica em pintos.** [Aspergillus omphalitis in chicks.] *Arqs Biol. Tecnol., Curitiba, 24(4):437-438.* Centro de Diagnósticos Marcos Enrietti, Secretaria da Agricultura do Estado do Paraná, Curitiba, PR 80000.

É relatado um surto agudo de onfalite que causou a morte de 7,5% dos pintos jovens (5 dias) de um lote de 10.000. *Aspergillus fumigatus* estava envolvido no processo patológico, cuja causa foi atribuída às condições não satisfatórias de higiene na granja de origem.

114. Macruz R., Giorgi W. & Santos M.R.S. 1981. **Habronemose gástrica em equinos: exames bacteriológicos e histopatológicos dos nódulos.** [Gastric habronemiasis of horses: Bacteriological and histopathological examination of nodules.] *Biológico, S. Paulo, 47(3):89-95.* Inst. Biológico, Cx. Postal 7119, São Paulo, SP 01000.

Foram realizados exames bacteriológicos e histopatológicos de 82 nódulos de habronemose gástrica, pertencentes a 76 equinos. Em 61 nódulos (74,40%) foi verificada a presença de *Streptococcus sp.* Beta hemolítico em cultura pura, havendo a associação desse microrganismo com *Escherichia coli* em 10 nódulos (12,20%) e com *Pseudomonas aeruginosa* uma única vez (1,22%). Outros microrganismos isolados foram: *Corynebacterium sp.* 3 vezes (3,65%), *Streptococcus sp.* 2 vezes (2,43%) e *Pseudomonas aeruginosa* 1 vez (1,22%). Do total examinado somente dois nódulos se mostraram estéreis, isto é, não houve desenvolvimento de qualquer bactéria nos meios de cultura utilizados. Os exames histopatológicos dos nódulos mostraram reação inflamatória e helmintos cortados em vários sentidos.

115. Giorgi W., Teruya J.M., Silva A.S. & Genovez M.E. 1981. **Leptospirose: Resultados das soro-aglutinações realizadas no Instituto Biológico de São Paulo, durante os anos de 1974/1980.** [Leptospirosis: Results of serum agglutination tests performed at the Instituto Biológico of São Paulo from 1974 thru 1980.] *Biológico, S. Paulo, 47(11):299-309.* Inst. Biológico, Av. Cons. Rodrigues Alves 1252, Cx. Postal 4185, São Paulo, SP 04014.

Num período de sete anos, compreendido entre 1974/1980, foram examinados 100.080 soros para leptospirose, pertencentes às diversas espécies animais, inclusive do homem. A técnica

empregada foi a soro-aglutinação microscópica com leitura em campo escuro, tendo-se utilizado bateria com doze antígenos. A diluição de 1/200 ou superior foi considerada como título significativo para reações positivas. O número de soros examinados e pertencentes às diversas espécies animais, os diferentes anos em que foram realizados estes exames, o número e a porcentagem de soros positivos, os sorotipos predominantes e os títulos aglutinantes obtidos nos soros positivos podem ser vistos nas tabelas numeradas de 1 a 14.

116. Ferreiro L. & Melo M.T. 1981. **Susceptibilidade antimicrobiana de estafilococos, isolados de mastite bovina na zona da mata de Minas Gerais.** [Antimicrobial susceptibility of Staphylococci isolated from bovine mastitis in the "Zona da Mata", Minas Gerais, Brazil.] *Pesq. Agropec. Bras. 16(3):445-451.* Centro Nac. Pesq. Gado de Leite, Embrapa, Rodovia 133, Km 42, Cx. Postal 151, Coronel Pacheco, MG 36155.

Foram realizados 354 antibiogramas com 300 estirpes de *Staphylococcus aureus* e 54 de *S. epidermidis*, através do método de difusão. Das 300 estirpes de *S. aureus*, 165 (55%) eram totalmente susceptíveis aos onze agentes antimicrobianos testados; 67 (22,3%) resistentes à penicilina G (PEN); cinco (1,7%) à tetraciclina (TET); quatro (1,3%) ao cloranfenicol (CLR); duas (0,6%) à estreptomicina (STR) e duas (0,6%) à lincomicina (LIN) *in vitro*. Resistência múltipla foi constatada em 14,9% das amostras, sendo mais comuns as combinações envolvendo PEN, STR, TET, CLR. De acordo com a fonte de infecção estafilocócica, 259 (86,3%) eram amostras de origem bovina, 29 (9,7%) de origem humana e 12 (4%) de origem canina, sendo as estirpes bovinas bem mais resistentes, exceto para novobiocina, cloxacilina e rifamicina. Em relação às 54 estirpes de *S. epidermidis*, 28 (51,8%) apresentaram susceptibilidade total e 16 (29,6%), resistência múltipla, especialmente combinações de PEN, STR, TET, CLR e sulfisoxazole. Todas as 354 estirpes testadas foram susceptíveis à rifampicina.

117. Machado A., Nascimento E.R., Rosa J.S., Nascimento M.G.F. & Giorgi W. 1981. **Controle da leptospirose L. interrogans, sorotipo pomona em rebanhos suínos.** [Control of leptospirosis in swine herds.] *Pesq. Agropec. Bras. 16(5):733-737.* Centro Nac. Pesq. Suínos e Aves, Embrapa, Cx. Postal D-3, Concórdia, SC 89700.

Um método de controle para leptospirose suína, utilizando diidroestreptomicina, na dose de 25 mg/kg de peso vivo, por

via intramuscular, associada a algumas medidas profiláticas, foi empregado em onze rebanhos suínos sintomáticos ou assintomáticos e positivos serologicamente para *Leptospira interrogans*, sorotipo *pomona*. A eficiência deste sistema de controle ficou comprovada não só pela eliminação dos sintomas clínicos mas também pela constatação da taxa de 100% de negatividade, para leptospirose, alcançada pelos rebanhos estudados, em tempo que variou de onze a quarenta e seis meses, após o início do experimento.

118. Camargo M.R., Graner M., Martinelli Filho A. & Barbin D. 1981. **Qualidade microbiológica da carne bovina moída a nível de varejo e sua avaliação pela prova da resazurina.** [Microbiological quality of commercial raw ground beef and its evaluation in a resazurin test.] *Revta Microbiol., S. Paulo, 12(1):22-27.* Depto Tecnol. Rural da ESALQ-USP, Cx. Postal 9, Piracicaba, SP 13400.

Amostras de carne bovina moída, obtidas em supermercados e açougues de Piracicaba, São Paulo, foram analisadas quanto à: 1) contagem total de bactérias (a 21, 32 e 35°C); 2) enumeração de coliformes (totais e *Escherichia coli*); 3) prova da resazurina (a 30 e 35°C); 4) determinação do pH; 5) avaliação subjetiva da qualidade. A contagem total e a enumeração de coliformes resultaram, geralmente, em valores elevados, que, para grande número das amostras, ultrapassaram limites máximos propostos ou adotados para o produto. O tempo de redução da resazurina esteve negativamente correlacionado com a contagem total de bactérias e com a enumeração de coliformes, e positivamente correlacionado com o período de conservação sob refrigeração, que foi de 1 a 3 dias. É proposta uma classificação da carne bovina moída comercial, com base na prova da resazurina, em nível aceitável (tempo de redução da resazurina > 8h), questionável (tempo de redução > 5h e ≤ 8h) e inaceitável (tempo de redução ≤ 5h). O limite máximo de 6,1 é sugerido para o pH do produto.

119. Yasuda P.H. & Rosa C.A.S. 1981. **Correlação entre soroaglutinação e isolamento de leptospiros em cães.** [Correlation between the microscopic agglutination test and isolation of leptospires from dogs.] *Revta Microbiol., S. Paulo, 12(2):35-37.* Depto Microbiol. Imunologia, Inst. Ciênc. Biomédicas USP, Setor Med., Av. Dr. Arnaldo 455, São Paulo, SP 01246.

Foi investigada a correlação entre soroaglutinação microscópica e presença de leptospiros nos rins de cães de rua, através de cultura. Observou-se que 16% de cães com sorologia positiva para *canicola* eliminavam este sorotipo de seus rins; 2,8% dos positivos para *icterohaemorrhagiae* eliminavam o sorotipo *copenhageni* e, de 5,5% dos reagentes para *pomona*, foi possível isolar este sorotipo. Dos 35 isolamentos de leptospiros, cinco cepas (14,3%) foram isoladas de cães com sorologia negativa.

120. Cordeiro F., Sulzer C.R. & Ramos A.A. 1981. **Two new leptospiral serovars in the Javanica group isolated in Brazil.** [Dois novos serovares de leptospira no grupo Javanica isolados no Brasil.] *Revta Microbiol., S. Paulo, 12(2):55-60.*

Embrapa — Patologia Animal, Km 47, Seropédica, RJ 23460.

Dois novos serovares de leptospira no sorogrupo *Javanica* são descritos. As cepas Aa-3 e Aa-4, que são idênticas, foram isoladas do camundongo-do-campo-sulamericano (*Akodon arviculoides*) no município de Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. A cepa Rr-5 foi isolada de rato de casa (*Rattus rattus*), capturado na mesma área. Os nomes *fluminense*, cepa Aa-3, e *rio*, cepa Rr-5 foram propostos. A importância das espécies portadoras é enfatizada.

121. Feigl M.H., Mós E.N., Larsson C.E. & Santos M.A.A. 1981. **Estudo microbiológico das otites externas em cães.** [Microbiological study of otitis externa in dogs.] *Revta Microbiol., S. Paulo, 12(3):88-91.* Depto Microbiol. Imunologia, Inst. Ciênc. Biomédicas USP, Setor Med. Vet., Cx. Postal 4365, São Paulo, SP 01000.

Pela análise microbiológica de 85 amostras de secreções de ouvidos de cães com otite externa e 32 de secreções de ouvidos de cães sadios, verificou-se que *Pityrosporon pachydermatis* e *Staphylococcus aureus* foram os agentes mais frequentemente isolados, tanto de ouvidos afetados quanto de sadios. Em todos os casos de otite, nos quais o *P. pachydermatis* esteve presente com outras bactérias, não houve necessidade de tratamento antimicótico, uma vez que a medicação antibacteriana levou o processo à cura, com subsequente desaparecimento da levedura. O papel de *P. pachydermatis*, nas otites externas, é ainda discutível.

122. Barcellos D.E.S.N. 1981. **Comparação entre métodos de identificação de Erysipelothrix rhusiopathiae em vísceras de suínos.** [Comparison of identification methods for the detection of Erysipelothrix rhusiopathiae in swine viscera.] *Revta Microbiol., S. Paulo, 12(4):134-137.* Lab. Patol. Suína, Inst. Pesq. Desidério Finamor, Cx. Postal 2076, Porto Alegre, RS 90000.

Erysipelothrix rhusiopathiae foi isolado de 16 entre 114 baços de suínos com sintomas e lesões de doença septicêmica. Foram comparados os seguintes métodos, para a evidênciação do agente: 1) bacterioscopia direta de impressões de vísceras, em lâminas coradas pelo método de Gram; 2) cultura direta em meio de Packer; 3) inoculação direta em camundongo; 4) enriquecimento em meio ESB (*Erysipelothrix Selective Broth*); e 5) enriquecimento em caldo BHI (*Brain Heart Infusion Broth*), a 4°C, por 10, 20 e 30 dias. Os três primeiros métodos permitiram identificar o agente em, respectivamente, 2,6%, 3,5% e 3,5% dos materiais. Com o uso do meio ESB, a percentagem de isolamento foi de 13,1%; com o de enriquecimento a frio, por 30 dias, 12,2%. O meio seletivo ESB foi superior aos demais e às técnicas seletivas, pelo maior índice de recuperação de *E. rhusiopathiae* em menor tempo (4 dias), comparado com 32 dias para o método de enriquecimento a 4°C.

123. Romero C.H., Aguiar A.A., Andrade S.R.S., Rowe C.A. & Silva A.G. 1981. **Prevalência de anticorpos contra o vírus da papilomatose bovina no Estado do Rio de Janeiro.**

[Bovine papilloma virus antibodies in the State of Rio de Janeiro.] *Revta Microbiol., S. Paulo, 12(4):158-161*. Embrapa – Patologia Animal, Km 47, Seropédica, RJ 23460.

Soros de 1174 bovinos, de 10 rebanhos leiteiros do Estado do Rio de Janeiro, foram testados para anticorpos contra o vírus de papilomatose bovina, utilizando-se a microprova de imunodifusão em ágar. A especificidade das reações foi confirmada quando grupos de partículas virais foram observados nas linhas de precipitação, pela microscopia eletrônica. Anticorpos de origem materna foram demonstrados em 18,3% dos bezerros, menores de três meses de idade, enquanto que anticorpos só foram demonstrados em 2,0% dos bezerros, entre quatro e seis meses de idade. Anticorpos também foram demonstrados em 21,5% dos bezerros, entre sete e 12 meses de idade; em 25,0% dos animais, entre 13 e 18 meses de idade; em 21,2% dos animais, entre 19 e 30 meses de idade; em 23,7% dos animais, entre 31 e 48 meses de idade e em 23,1% dos animais, maiores de 49 meses de idade.

DOENÇAS PARASITÁRIAS

124. Aragão M.B. & Ribeiro-Filho B. 1981. **Ação sistêmica do inseticida phoxim contra a pulga e o carrapato do cão.** [Systemic effect of the insecticide Phoxim against fleas and ticks of the dog.] *Arqs Biol. Tecnol., Curitiba, 24(3):393-395*. Esc. Nac. Saúde Pública, Rio de Janeiro, RJ 21041.

Phoxim a 0,15 e 0,20, misturado a ração comercial para cães foi administrado a cães infestados com *Ctenocephalis canis* e *Rhipicephalus sanguineus*, variando as doses individuais de 41 a 135 mg/kg. Os ectoparasitos foram eliminados dentro de 2 a 4 dias.

125. Busetti E.T., Paske A. & Garcia E. 1981. **Incidência parasitária em *Bubalus bubalis*.** [Incidence of parasites in *Bubalus bubalis*.] *Arqs Biol. Tecnol., Curitiba, 24(3):397-399*. Depto Patologia Básica, Univ. Fed. Paraná, Rua 15 de novembro s/n, Cx. Postal 441, Curitiba, PR 80000.

Através de exames coprológicos em 200 búfalos adultos e jovens, verificou-se a infestação, com incidência de 6 a 25% e com a média de 2.000 ovos por grama de fezes, em animais de Antonina, Paraná, por *Cooperia sp.*, *Ostertagia sp.*, *Bunostomum sp.*, *Haemonchus sp.*, *Trichostrongylus sp.*, *Oesophagostomum sp.*, e estrongilóides. Em um animal necropsiado foi achada uma forma autóctone de *Fasciola hepatica*, com numerosos exemplares no fígado, vesícula biliar e duodeno. Em outra necropsia, observou-se infestação interna por *Mammomonogamus laryngeus* na traquéia. Registrou-se ainda infestação para *Haematopinus sanguineus*. A sarna psoróptica incidiu em 70% dos 50 animais jovens, mas foi leve o parasitismo por *Boophilus microplus* e *Amblyomma sp.* no total do lote examinado.

126. Catto J.B. 1981. **Nematodioses gastrintestinais em bezerros zebus no Pantanal Matogrossense. II. Dinâmica anual da população de nematódeos adultos, em bezerros nascidos no**

fim da estação chuvosa. [Gastrointestinal nematodes of zebu calves in the Pantanal region of Mato Grosso, Brazil. II. Annual population dynamics of adult nematodes in calves born at the end of the rainy season.] *Pesq. Agropec. Bras. 16(3):439-443*. UEPAE – Embrapa, Cx. Postal 109, Corumbá, MS 79300.

Durante um ano, através dos exames de fezes (O.P.G.), coprocultura e necropsias, o autor estudou, na sub-região da Nhecolândia, Pantanal matogrossense, a dinâmica natural da população de nematódeos adultos em bezerros nascidos no fim da estação chuvosa (1976-1977). Para a execução deste estudo, utilizaram-se 30 bezerros machos, de dois a três meses de idade no início do trabalho, mantidos em pastagem nativa e criados sob o mesmo manejo extensivo adotado na região. Os resultados observados permitiram concluir que os gêneros mais prevalentes e importantes são: *Haemonchus*, *Oesophagostomum* e *Cooperia*. Os bezerros nascidos no fim do período chuvoso (fevereiro/março) são intensamente parasitados na estação chuvosa subsequente, sendo recomendável um tratamento anti-helmíntico antes do desmame. O O.P.G., de um modo geral, mostrou a flutuação na intensidade da infecção, mas falhou na estimativa do seu nível.

127. Faccini J.L., Padilha T.N. & Fonseca A.A. 1981. **Otoacaríase psoróptica dos caprinos – Infestação subclínica.** [Psoroptic otocariasis of goats – Subclinical infestation.] *Pesq. Agropec. Bras. 16(5):725-726*. Depto Biologia Animal, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23460.

A otoacaríase psoróptica subclínica dos caprinos é assinalada nos Estados de Pernambuco e Rio de Janeiro. Índices de infestação de 59,3% e 46% foram observados em animais com idade aproximada de doze meses, criados nos Estados de Pernambuco e Rio de Janeiro, respectivamente.

128. Leite A.C.R., Guimarães M.P. Costa J.O., Costa H.M.A. & Lima W.S. 1981. **Curso natural das infecções helmínticas gastrintestinais em bezerros.** [Natural course of gastrointestinal helminthic infection in calves.] *Pesq. Agropec. Bras. 16(6):891-894*. Depto Parasitologia, Univ. Fed. Minas Gerais, Cx. Postal 2486, Belo Horizonte, MG 30000.

Bezerros holandês x zebu, nascidos nas estações seca e chuvosa de 1977 (Grupos I e II) e seca de 1978 (Grupo III) foram criados em gaiolas individuais até os 56 dias de idade (época da desmama) e em seguida transferidos para pastagens a fim de ser acompanhado o curso natural das infecções por helmintos gastrintestinais. Mensalmente eram feitos o controle de peso e a colheita de fezes para as contagens de ovos por grama de fezes e coproculturas, além da necropsia de dois animais. Os animais introduzidos nas pastagens no início do período chuvoso (setembro-outubro, Grupos I e III) apresentaram maior número de helmintos do que os animais introduzidos no final desta estação (fevereiro-março, Grupo II). Os helmintos identificados à necropsia foram *Cooperia punctata*, *Haemonchus contortus*, *H. similis*, *Trichostrongylus axei*, *Oesophagostomum radiatum*, *Bunostomum phlebotomum* e *Trichuris discolor*. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas no ganho de peso entre os animais dos três grupos.

129. Bianchin I., Melo H.J.H. & Gomes A. 1981. O ciclo parasitário do *Haemonchus similis*. [The parasitic life-cycle of *Haemonchus similis*.] *Pesq. Agropec. Bras.* 16(6):895-899. Centro Nac. Pesq. Gado de Corte, Embrapa, Cx. Postal 154, Campo Grande, MS 79100.

É descrito o ciclo parasitário do *Haemonchus similis*. Quatorze bezerros Nelore, de cinco a seis meses de idade, livres de infecção por nematódeos gastrintestinais através da aplicação de anti-helmínticos de amplo espectro, foram inoculados com 10.000 larvas de *Haemonchus similis*, e necropsiados, um a um, em intervalos de 36, 48 e 76 horas e 5, 8, 10, 13, 15, 18, 21, 24 e 28 dias após a infecção. Os dois bezerros restantes foram acompanhados para verificar o período pré-patente. A dinâmica de infecção foi a seguinte: 36/48 horas, larvas de terceiro estágio (L_3) desembainhadas; 76 horas, larvas em quarto estágio inicial (L_4I); 8º dia, larvas em quarto estágio final (L_4F); 18º dia, larvas em quinto estágio (L_5); e 28º dia, helmintos adultos. O período pré-patente foi de 27 a 28 dias. A congestão da mucosa do abomaso foi marcante até o 13º dia, enquanto o edema aumentou gradativamente até a última necropsia. Recuperou-se maior quantidade de formas imaturas (L_3 e L_4I) na digestão da mucosa até o 5º dia, indicando uma fase histotrófica curta. Foi observado que o *H. similis* tem um ciclo parasitário semelhante ao do *H. placei*, mas difere do *H. contortus* no que diz respeito ao período pré-patente e à evolução de alguns estádios. A morfologia dos diversos estádios evolutivos, exceto a fase adulta, é semelhante à de outras espécies de *Haemonchus* de bovinos.

130. Catto J.B. & Furlong J. 1982. Desenvolvimento de bovinos criados extensivamente, submetidos a vários esquemas de tratamento anti-helmíntico, no Pantanal Matogrossense. [Development of extensively raised cattle under various worm control schemes, in the Pantanal of Mato Grosso, Brazil.] *Pesq. Agropec. Bras.* 17(1):131-136. Unidade Exec. Pesq. Âmbito Estadual (UEPAE), Embrapa, Cx. Postal 109, Corumbá, MS 79300.

Para verificar o efeito do tratamento anti-helmíntico no ganho de peso de bovinos de corte criados extensivamente, na região do Pantanal Matogrossense, foram utilizados 40 animais de dois a 30 meses de idade, separados em quatro lotes, submetidos aos seguintes tratamentos: A — Testemunha; B — medicação apenas na desmama; C — medicação em intervalos bimensais entre setembro e março, após a desmama; e D — medicação em intervalos bimensais a partir dos dois meses de idade. O anti-helmíntico aplicado foi o Cloridrato de Levamisol a 7,5%, por via parenteral, na dose de 1 ml para cada 20 kg de peso vivo, considerando-se o peso médio dos animais de cada lote. A análise de variância dos dados obtidos revelou que os tratamentos não influíram significativamente no desenvolvimento dos animais e que o fator sexo foi significativo no nível de 1%. Concluiu-se que em bovinos criados extensivamente, com níveis baixos de parasitismo, o tratamento anti-helmíntico não produziu efeito significativo no ganho de peso.

131. Ogassawara S., Benassi S., D'Angelino J.L., Araújo

W.P. & Gouveia A.C. 1981. Observações sobre *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri* Laveran, 1902 em bovino no Estado de São Paulo. [Observations on *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri* from a cow in the State of São Paulo, Brazil.] *Revista Microbiol., S. Paulo*, 12(1):17-21. Depto Med. Vet. Preventiva e Saúde Animal, Fac. Med. Vet. Zootec. USP, Cidade Universitária, São Paulo, SP 05508.

Trypanosoma theileri foi encontrado em grande número no sangue de uma vaca de cinco anos de idade procedente de Bragança Paulista, Estado de São Paulo. O animal apresentou sintomas de distúrbios cárdio-respiratórios e digestivos. A vaca foi submetida a intensivo tratamento de suporte, inclusive com Beronal. Exames de sangue foram realizados dois dias após e nenhum parasita foi detectado. O animal morreu duas semanas depois, quando foi necropsiado e as lesões registradas. Amostra de sangue do animal doente foi inoculada em animais de laboratório e resultou negativa, enquanto que a cultura em placas de ágar-sangue, inoculadas a 37°C, examinadas 10 dias após, revelaram a presença de estádios de epimastigota. *T. theileri* sobreviveu mais de 10 dias em sangue conservado a 4°C. Como, à necropsia, o animal apresentou vários processos patológicos, que causaram a morte, *T. theileri* provavelmente aproveitou-se da má condição do animal e multiplicou-se intensivamente, resultando em alta parasitemia.

PATOLOGIA, CLÍNICA E CIRURGIA

132. Schonhofen C.A. & Garcia R.G.F. 1981. Ocorrência de botulismo em *Netta peposaca* (pato selvagem) e *Dendrocygna viadua* (irerê). [An outbreak of botulism in wild ducks in Curitiba, Paraná.] *Arqs Biol. Tecnol., Curitiba*, 24(4):433-435. Centro de Diagnósticos Marcos Enrietti, Secretaria da Agricultura do Estado do Paraná, Curitiba, PR 80000.

É relatado um surto de botulismo que causou a morte de 15 patos e 12 irerês criados em liberdade em um parque aquático de Curitiba, Paraná. A presença de toxina botulínica foi confirmada através de culturas do conteúdo intestinal e de fragmentos do fígado das aves mortas. A toxina foi identificada como pertencente ao tipo C pela prova de inoculação de antitoxina em camundongos.

133. Alencar Filho R.A., Rodrigues F.M. & Vianna W.O. 1981. Alterações do leucograma em bovinos positivos à imunodifusão para a leucose enzoótica. [Changes in the leukogram of BLV-infected cattle.] *Biológico, S. Paulo*, 47(4):103-106. Inst. Biológico, Av. Cons. Rodrigues Alves 1252, Cx. Postal 7119, São Paulo, SP 04014.

Estuda-se a influência do vírus da leucose bovina (BLV) sobre o leucograma de bovinos sorologicamente positivos. Dados comparativos entre a ID (Imunodifusão) e o leucograma para o diagnóstico da leucose, em sua fase pré-clínica, são suficientes para demonstrar a superioridade da imunodifusão. A elaboração de leucogramas de bovinos requer pois uma pré- via triagem sorológica, devido às alterações quantitativas dos leucócitos e linfócitos causadas pelo vírus da leucose dos bovinos (BLV).

134. Riet-Correa F., Mendez M.C., Schild A.L., Santos E.C. & Scarsi R.M. 1981. Experimentos em coelhos sugerem *Nierembergia veitchii* como causa de calcinose enzoótica em ovinos do Rio Grande do Sul. [Experiments in rabbits suggest *Nierembergia veitchii* as a cause of enzootic calcinosis in sheep of Rio Grande do Sul, Brazil.] *Pesq. Agropec. Bras.* 16(5):727-732. Fac. Vet., Univ. Fed. Pelotas, Campus Universitário, Baronesa, Pelotas RS 96100.

Com o objetivo de determinar a etiologia de uma calcinose enzoótica em ovinos do Rio Grande do Sul, foram administradas a coelhos diversas plantas e misturas de plantas mescladas à ração. *Nierembergia veitchii* Hook, família Solanaceae, produziu calcificação dos tecidos moles, inibição da osteólise osteocítica, osteopetrose e osteonecrose, quando foi administrada a quatro coelhos, misturada a 50% da alimentação. Quinze coelhos que ingeriram outras plantas e seis coelhos testemunhas, não mostraram evidências macroscópicas ou histológicas de calcinose. Demonstra-se que *N. veitchii* tem propriedades calcinogênicas em coelhos, o que parece indicar que está associada à produção de calcinose enzoótica em ovinos.

135. Sousa J.C., Conrad J.H., Blue W.G., Ammerman C.B. & McDowell L.R. 1981. Inter-relações entre minerais no solo, plantas forrageiras e tecido animal 3. Manganês, ferro e cobalto. [Interrelationships among mineral levels in soil, forage, and animal tissues 3. Manganese, iron, and cobalt.] *Pesq. Agropec. Bras.* 16(5):739-746. Centro Nac. Pesq. Gado de Corte, Embrapa, Cx. Postal 154, Campo Grande, MS 79100.

Fez-se um estudo das deficiências minerais em seis fazendas localizadas ao norte do Estado de Mato Grosso, tendo sido amostrados os solos, plantas forrageiras e tecido animal, coletados durante as estações seca e chuvosa. As análises de Mn indicam que, das seis fazendas estudadas, duas tinham níveis de Mn no solo considerados baixos, 6 e 14 ppm; as outras quatro apresentaram níveis adequados, acima de 20 ppm. Os níveis de Mn nas forrageiras eram suficientes para atender às exigências dos bovinos, em todas as seis fazendas, nas duas épocas estudadas. Entretanto, os níveis de Mn no fígado dos animais foram deficientes em cinco das seis fazendas estudadas, e na estação chuvosa, a deficiência era mais generalizada do que no período seco. As análises de Fe no solo mostraram que duas

fazendas apresentaram níveis ligeiramente baixos para algumas das forrageiras, mas as outras quatro tinham níveis médios adequados, acima de 20 ppm. Os níveis de Fe nas forrageiras e no fígado, em todas as seis fazendas, foram considerados adequados para bovinos de corte. Os solos da fazenda 1, 3 e 4, mostraram teores adequados de Co; entretanto as demais fazendas possuíam solos deficientes. Apenas as forrageiras das fazendas que tinham solos ricos em Co, possuíam esse mineral em quantidade suficiente para atender às exigências nutricionais dos animais. Em todas as fazendas, os animais apresentaram níveis adequados de Co. As médias de Co no fígado foram mais baixas na estação chuvosa do que na estação seca.

136. Freitas M.A.Q., Santos J.A., Magalhães H. & Carvalho E.C.Q. 1982. Abscesso cerebral por *Listeria monocytogenes* em bovino. [Cerebral abscess in a cow caused by *Listeria monocytogenes*.] *Pesq. Agropec. Bras.* 17(1):137-141. Ministério da Agricultura, Alameda São Boaventura 770, Fonseca, Niterói, RJ 24123.

Em uma vaca com manifestações nervosas caracterizadas fundamentalmente por andar em círculo, os autores observaram, à necropsia, abscesso cerebral causado por *Listeria monocytogenes* L 4b. O abscesso estava localizado na região occipital do hemisfério cerebral esquerdo e media 4 cm de diâmetro; seu pus era de tonalidade rósea e de consistência viscosa.

ANATOMIA E FISIOLOGIA

137. Azevedo P.P., Liegel S.R., Riella A.C.M., Wouk A.F.P.F., Pippi N.L., Farias E.L.P. & Kesikowski L.J.B. 1981. Sistema de ductos excretores do pâncreas em *Canis familiaris*, L. 1758. Excretory duct system of the pancreas in *Canis familiaris*, L. 1758. *Arqs Biol. Tecnol., Curitiba*, 24(3):401-405. Depto Morfol., Univ. Fed. Paraná, Rua 15 de novembro s/n, Cx. Postal 441, Curitiba, PR 80000.

Foram observados os dutos pancreáticos funcionais, os tipos de localização anatômica, a abertura do duto biliar comum, a distância entre as papilas duodenais e a distância entre o piloro e a papila em 30 cães adultos, machos e fêmeas, em Curitiba, Paraná. Os dados foram estudados estatisticamente.

REVISTAS INCLUÍDAS NA PREPARAÇÃO DOS RESUMOS
PARA PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA¹

- Anais da Escola de Agronomia e Veterinária, Universidade Federal de Goiás
Anais Esc. Agron. Vet. UFGO, Goiânia
- Arquivos de Biologia e Tecnologia
Arqs Biol. Tecnol., Curitiba
- Arquivos da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia
Arqs Esc. Med. Vet. UFBA, Salvador
- Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais
Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte
- Arquivos da Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Arqs Fac. Vet. UFRS, Porto Alegre
- Arquivos do Instituto Biológico
Arqs Inst. Biológico, S. Paulo
- O Biológico
Biológico, S. Paulo
- Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias "Desidério Finamor"
Boim Inst. Pesq. Vet. Desidério Finamor, Porto Alegre
- Pesquisa Agropecuária Brasileira
Pesq. Agropec. Bras.
- Revista Brasileira de Medicina Veterinária
Revta Bras. Med. Vet.
- Revista Brasileira de Reprodução Animal
Revta Bras. Reprod. Animal
- Revista do Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria
Revta Centro Ciênc. Rurais UFSM, Sta Maria
- Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo
Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP, S. Paulo
- Revista de Microbiologia
Revta Microbiol., S. Paulo

¹ Foram levados em consideração os volumes editados a partir de 1979.

CONTAGEM LINFOCITÁRIA E ANTICORPOS CONTRA O VÍRUS DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA EM REBANHOS DO RIO DE JANEIRO¹

MARIA IGNEZ C. FERREIRA², CARLOS H. ROMERO³ E CHERYL A. ROWE³

ABSTRACT.- Ferreira M.I.C., Romero C.H. & Rowe C.A. 1982. [Absolute lymphocyte counts and antibodies against enzootic bovine leukosis virus in dairy herds of Rio de Janeiro.] Contagem linfocitária e anticorpos contra o vírus da leucose enzoótica bovina em rebanhos do Rio de Janeiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 2(3):99-104. Embrapa - Patologia Animal, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23460, Brazil.

Fifty-five dairy cows from two herds located in the State of Rio de Janeiro, were evaluated monthly over a six month period for persistent lymphocytosis (PL) and for the presence of plasma antibody to the major glycoprotein (gp51) of bovine leukosis virus (BLV), as evidence of infection. Absolute lymphocyte counts were superimposed on Bendixen's hematological key for bovine leukosis. Animals were considered to have PL when, during the six month period, three absolute lymphocyte counts were above 7000 per mm³ of blood. In herd A, of 15 absolute lymphocyte counts from three antibody-negative cows, 13 (86.7%) were normal and two (13.3%) suspect. Counts from 17 antibody-positive cows from the same herd showed 29 (30.5%) normal, 36 (37.9%) suspect and 30 (31.6%) leukotic. In herd B, of 82 absolute lymphocyte counts from 14 antibody-negative cows, 45 (54.9%) were normal, 23 (28.1%) suspect and 14 (17.0%) leukotic. Counts from 21 antibody-positive cows showed that 53 (45.3%) were normal, 40 (34.2%) were suspect and 24 (20.5%) were leukotic. It is concluded that PL is an unreliable criterion to identify cattle infected with BLV in the subtropical environment, and must not be used in programs aimed at controlling or eradicating BLV from infected herds. However, the hematological keys will continue to be useful in the diagnosis of the clinical disease, that is, the bovine lymphosarcoma. The use of the immunodiffusion test to detect antibody to gp51 in the plasma or serum of infected cattle is a simple and sensitive tool in the control of BLV infection.

INDEX TERMS: Enzootic bovine leukosis, virus, persistent lymphocytosis, antibodies, glycoprotein.

SINOPSE.- Cinquenta e cinco vacas leiteiras de dois rebanhos localizados no Estado do Rio de Janeiro foram examinadas mensalmente, durante um período de seis meses, para determinar a linfocitose persistente (LP) e a presença, no plasma, de anticorpos contra a glicoproteína maior (gp51) do vírus da leucose bovina (VLB), como evidência da infecção. As contagens linfocitárias absolutas foram sobrepostas à chave hematológica de Bendixen para leucose bovina. Os animais foram considerados portadores de LP quando, durante o período de seis meses, três contagens linfocitárias absolutas estavam acima de 7000 por mm³ de sangue. No rebanho A, de 15 contagens linfocitárias absolutas de três vacas anticorpo-negativas, 13 (86,7%) eram normais e duas (13,3%) atingiram a faixa de suspeitas. De 17 contagens de 17 vacas anticorpo-positivas do mesmo rebanho, 29 mostraram-se (30,5%) normais, 36 (37,9%) suspeitas e 30 (31,6%) leucóticas. No rebanho B, de

82 contagens linfocitárias absolutas de 14 vacas anticorpo-negativas, 45 (54,9%) eram normais, 23 (28,1%) suspeitas e 14 (17,0%) leucóticas. As 21 contagens de 21 vacas anticorpo-positivas mostraram que 53 (45,3%) eram normais, 40 (34,2%) eram suspeitas e 24 (20,5%) eram leucóticas. Concluiu-se que a LP é um critério pouco confiável na detecção de bovinos infectados com o VLB num ambiente subtropical e não deve ser utilizada em programas que objetivam a controlar ou erradicar o VLB de rebanhos infectados. Porém, as chaves hematológicas continuarão sendo úteis no diagnóstico da doença clínica, o linfossarcoma bovino. Ficou também evidente que a prova de imunodifusão para detectar anticorpos contra gp51 no plasma ou soro de animais infectados é um método simples e sensível para o controle da leucose bovina.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Leucose enzoótica bovina, vírus, linfocitose persistente, anticorpos, glicoproteína.

¹ Aceito para publicação em 12 de janeiro de 1982.

Parte de tese de Mestrado pela autora principal, Curso de Pós-graduação em Patologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

² Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23460; bolsista do CNPq.

³ Unidade de Pesquisa de Patologia Animal, EMBRAPA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23460.

INTRODUÇÃO

A leucose enzoótica bovina (LEB) é uma neoplasia do tecido linfóide caracterizada por proliferação descontrolada de linfócitos B (Muscoy et al. 1974). A doença é causada por um oncovírus de tipo C (Miller et al. 1969) da família Retroviridae, o vírus da leucose bovina (VLB). O vírus parece ser exóge-

no à espécie bovina (Kettmann et al. 1976) e a infecção é adquirida principalmente por transmissão horizontal de bovinos infectados. As vacas infectadas também transmitem o VLB, epigeneticamente, no útero, a cerca de 20% de suas crias (Piper et al. 1979). Aproximadamente 29% dos bovinos que adquirem a infecção, desenvolvem linfocitose persistente (LP) e menos de 5%, eventualmente, desenvolvem a doença clínica e morrem com tumores linfóides (Ferrer et al. 1979). Estes achados questionam a utilização de chaves hematológicas para detectar bovinos portadores (Bendixen 1960) pois a infecção de muitos animais deixa de ser reconhecida e tais animais se constituem em contínuas fontes de infecção. Estas chaves foram concebidas tomando como critério valores hematológicos de bovinos de origem européia localizados no continente europeu e não teriam, necessariamente, o mesmo valor prático em bacias leiteiras tropicais e sub-tropicais nas quais se incrementa, cada vez mais, a exploração de bovinos mestiços *Bos indicus x Bos taurus* e onde as condições sanitárias são diferentes.

A prova de imunodifusão em ágar gel para detectar anticorpos no plasma ou no soro contra a glicoproteína maior (gp51) do VLB (Miller & Van Der Maaten 1977) tem sido adotada pelos órgãos sanitários de vários países como o teste oficial para diagnosticar a infecção pelo VLB. A prova é sensível e fácil de ser executada e um resultado positivo é indicativo da infecção pelo VLB e não da doença.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a sensibilidade diagnóstica da chave de Bendixen, a chave hematológica mais utilizada para o diagnóstico da LEB, e compará-la com a prova de imunodifusão em ágar gel para detectar anticorpos contra gp51 do VLB, em vacas leiteiras mestiças, criadas numa região subtropical e mantidas em um sistema de pastagem extensivo

MATERIAL E MÉTODOS

Animais de experimentação. Foram utilizadas vacas com mais de quatro anos de idade que se encontravam dentro dos três primeiros meses de lactação. As vacas pertenciam a dois rebanhos leiteiros localizados no município de Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro, e eram mestiças zebu x holandês, com vários graus de sangue. Ambos os rebanhos eram mantidos em sistema de pastagem extensivos e são referidos neste trabalho como rebanhos A e B.

Amostras de sangue. As vacas dos rebanhos A e B foram classificadas como livres ou infectadas com o VLB em levantamento soro-epidemiológico preliminar, utilizando-se a prova de imunodifusão em ágar gel. Para o presente estudo, foram selecionadas três vacas livres e 17 vacas infectadas do rebanho A e 14 vacas livres e 21 vacas infectadas do rebanho B. Todos os animais em experimentação foram sangrados mensalmente, durante um período de seis meses, para determinação das contagens linfocitárias absolutas de cada um e para ser verificada a associação dos valores hematológicos encontrados com a ausência ou a presença de anticorpos contra o VLB. O sangue de cada animal era obtido por punção da veia jugular e coletado em frascos de vidro contendo EDTA, utilizando-se agulha estéril para cada vaca.

Contagens linfocitárias absolutas. O número total de linfócitos por mm^3 de sangue foi calculado depois de determinado o número total e diferencial de leucócitos por técnicas hematológicas conhecidas (Ferreira Neto et al. 1975).

Plasmas para determinação de anticorpos. Uma porção do sangue com EDTA de cada animal era centrifugada a 2500 rpm durante 10 minutos e o plasma obtido era congelado a -20°C antes de ser testado para detecção de anticorpos pela prova de imunodifusão.

Prova de imunodifusão para o VLB. Foi utilizada a prova em placa de imunodifusão em ágar gel com antígenos e soros referência que reagiam formando duas linhas de precipitação específicas para a proteína estrutural p25 e gp51 do VLB. A origem dos reagentes referência assim como as condições de montagem da prova de imunodifusão foram previamente descritas (Romero & Rowe 1981, Ferreira et al. 1982).

RESULTADOS

Os resultados obtidos estão representados em quatro gráficos visando demonstrar, sob forma panorâmica, a variação mensal, durante um período de seis meses, das contagens linfocitárias absolutas de cada animal (Fig. 1 a 4). Estes resultados foram enquadrados na chave hematológica de Bendixen, apresentada no Quadro 1. O número total de linfócitos por mm^3 de sangue de cada bovino é representado por uma letra. Assim, por exemplo, as contagens linfocitárias absolutas⁴ da vaca K, sorologicamente portadora de anticorpos contra gp51 do VLB, do rebanho B, foram de 9.417, 6.816, 9.933, 6.475, 8.416 e 9.883 para os meses de abril, maio, junho, julho, agosto e setembro, respectivamente. De acordo com a chave hematológica de Bendixen estas taxas enquadravam-se quase sempre na faixa positiva, com exceção dos meses de maio e julho, em que se enquadravam como suspeitas.

Foram testados 15 plasmas de três vacas soro-negativas do rebanho A, pela prova de imunodifusão para detectar anticorpos contra o VLB, com resultados negativos. As contagens linfocitárias absolutas nestas vacas variaram entre 2.968 e 6.072 linfócitos por mm^3 de sangue enquanto que as percentagens de linfócitos fluuavam entre 28 e 50%. Quando as contagens linfocitárias absolutas foram sobrepostas à chave hematológica de Bendixen, encontrou-se que 13 (86,7%) dos casos correspondiam a achados hematológicos negativos para leucose enquanto que dois (13,3%) foram considerados como suspeitos (Fig. 1). Ainda no rebanho A, entre 95 plasmas correspondentes a 17 vacas soro-positivas pela prova de imunodifusão, encontram-se anticorpos em 90 amostras, dois plasmas foram negativos e três não foram testados. As contagens linfocitárias absolutas nestas 17 vacas variaram entre 2.632 e 18.860 linfócitos por mm^3 de sangue enquanto que as percentagens de linfócitos fluuavam entre 22 e 82%. As 95 contagens linfocitárias absolutas realizadas foram enquadradas na chave de Bendixen encontrando-se que 29 (30,5%) correspondiam a taxas

⁴ As contagens linfocitárias absolutas de cada bovino podem ser encontradas em Ferreira (1982).

negativas, 36 (37,9%) a suspeitas e 30 (31,6%) a positivas em relação à LEB (Fig. 2).

No rebanho B, das 14 vacas soro-negativas, 13 mantiveram-se livres de infecção com o VLB. De 82 plasmas testados na prova de imunodifusão, 81 não continham anticorpos enquanto que um plasma se tornou positivo (vaca N) no quarto mês de avaliação. As contagens linfocitárias absolutas nas 14 vacas variaram entre 1.838 e 12.888 linfócitos por mm^3 de sangue enquanto que as percentagens de linfócitos variaram entre 25 e 89%. Quando as contagens linfocitárias absolutas destas vacas foram avaliadas pela chave de Bendixen, verificou-se que 45 (54,9%) eram negativas, 23 (28,1%) suspeitas e 14 (17,0%) positivas enquanto que a amostra que se tinha tornado soro-positiva caía na faixa de suspeita (Fig. 3). Foram também testadas 117 amostras de plasma correspondentes a 21 vacas soro-positivas do mesmo rebanho, encontrando-se anticorpos em 115. Um plasma foi negativo e outro não foi testado. As contagens linfocitárias absolutas nas 21 vacas variaram entre 2.112 e 13.735 linfócitos por mm^3 de sangue enquanto que as percentagens de linfócitos variaram entre 28 e 82%. Quando as 117 contagens linfocitárias absolutas foram sobrepostas à chave de Bendixen, 53 (45,3%) indicavam um resultado negativo, 40 (34,2%) eram suspeitas e 24 (20,5%) foram consideradas como infectadas (Fig. 4).

DISCUSSÃO

Durante a realização do estudo, 55 vacas pertencentes a dois rebanhos leiteiros localizados no Estado do Rio de Janeiro, uma região subtropical, foram examinadas, mensalmente, du-

rante um período de seis meses, tanto pela chave hematológica de Bendixen (1960) para determinar a linfocitose persistente (LP) como pela prova de imunodifusão para detectar anticorpos contra a glicoproteína maior gp51 do VLB, para comparar estes dois métodos de diagnóstico da LEB. As vacas foram selecionadas dentro de uma população maior, como positivas ou negativas, com base na presença ou ausência de anticorpos contra gp51 do VLB no soro. Cada animal era considerado como portador de LP quando apresentava um mínimo de três contagens enquadradas dentro da faixa positiva da chave de Bendixen durante os seis meses do experimento. Assim sendo, as três vacas soro-negativas do rebanho A não apresentaram LP em nenhum exame, já das 17 vacas soro-positivas deste mesmo rebanho, seis (35,3%) apresentaram LP em, pelo menos, três contagens. Em outras palavras, 64,7% dos bovinos infectados não puderam ser identificados quando avaliados pela chave hematológica de Bendixen. Das 14 vacas soro-negativas do rebanho B, 13 mantiveram-se livres de anticorpos durante o transcurso da avaliação. Destas 13 vacas, 10 (76,9%) não apresentaram LP e três (23,1%) revelaram falsa LP. Das 21 vacas soro-positivas do mesmo rebanho, apenas três (14,3%) apresentaram LP enquanto que 18 (85,7%) não puderam ser reconhecidas como positivas pela chave de Bendixen, comportando-se como falso-negativas.

Se, no presente trabalho, fosse tomado como critério o resultado de um único exame hematológico para diagnosticar a infecção com a LEB (Miller 1980), os resultados individuais de cada exame mensal revelariam 86,7% de contagens negativas de 13,3% de suspeitas para a LEB nas vacas soro-negativas do rebanho A. Neste mesmo rebanho, considerando-se as con-

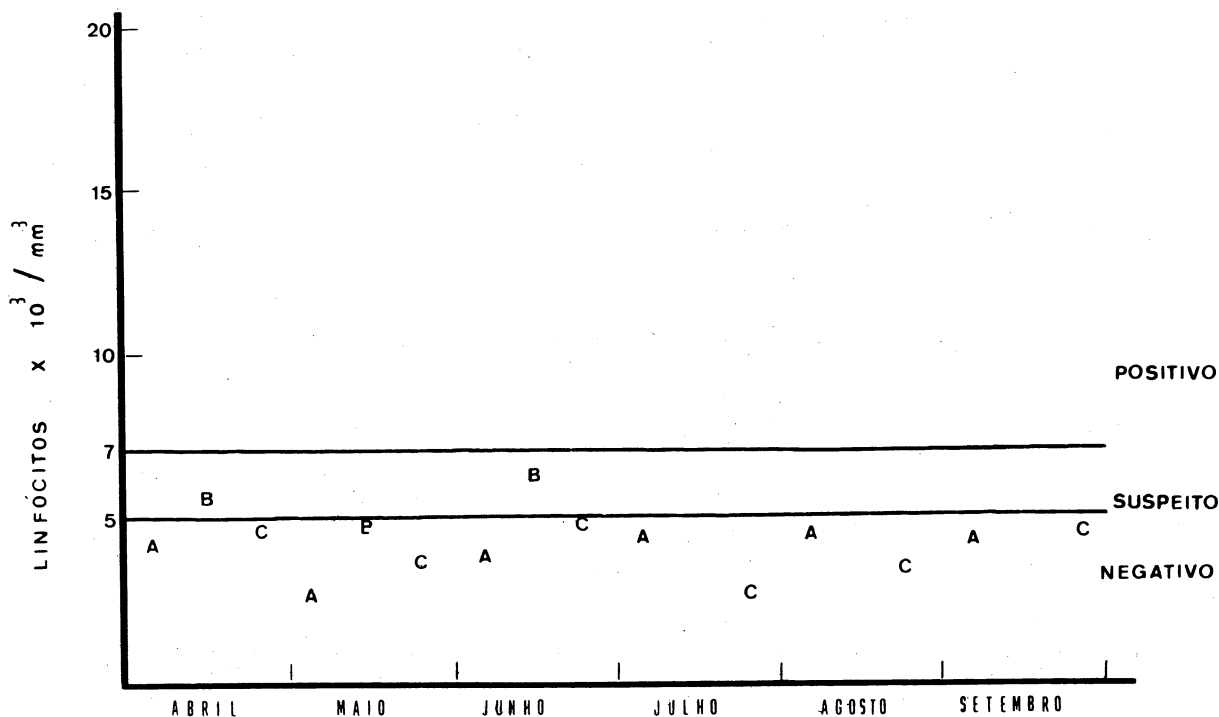


Fig. 1. Distribuição das contagens linfocitárias absolutas segundo a chave de Bendixen para leucose bovina, de três vacas livres de anticorpos contra o VLB, do rebanho A.

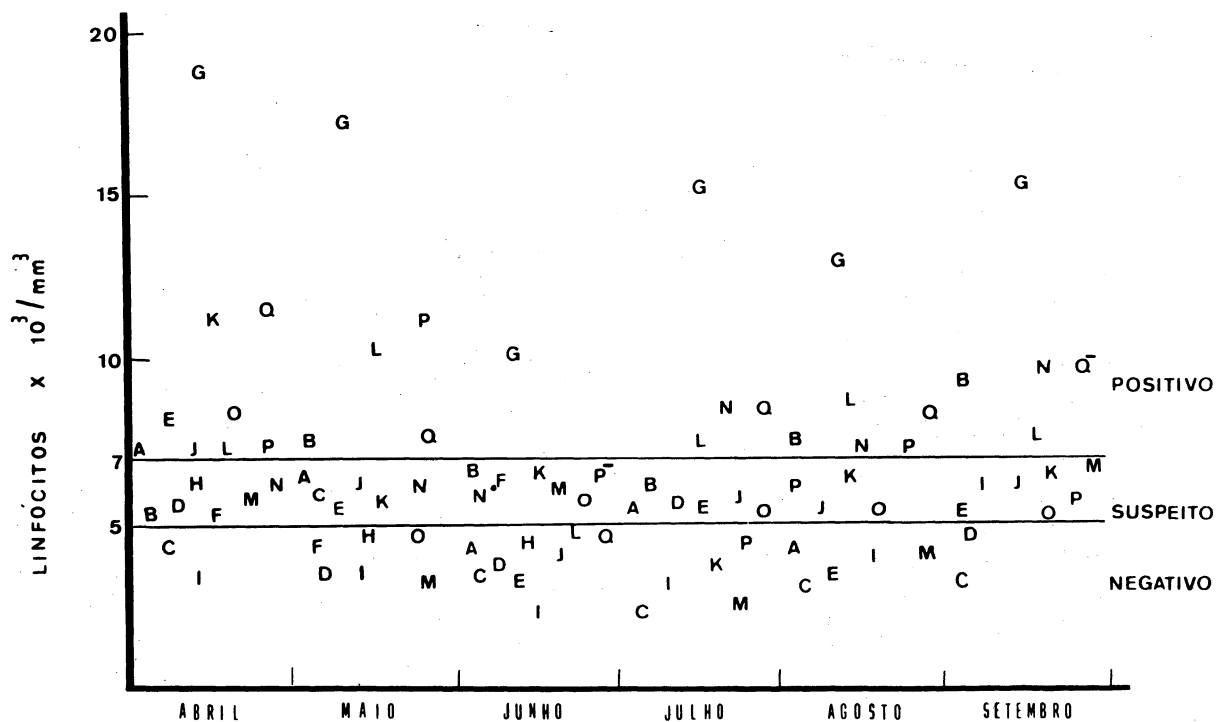


Fig. 2. Distribuição das contagens linfocitárias absolutas segundo a chave de Bendixen para leucose bovina, de 17 vacas com anticorpos contra gp51 do VLB, do rebanho A.

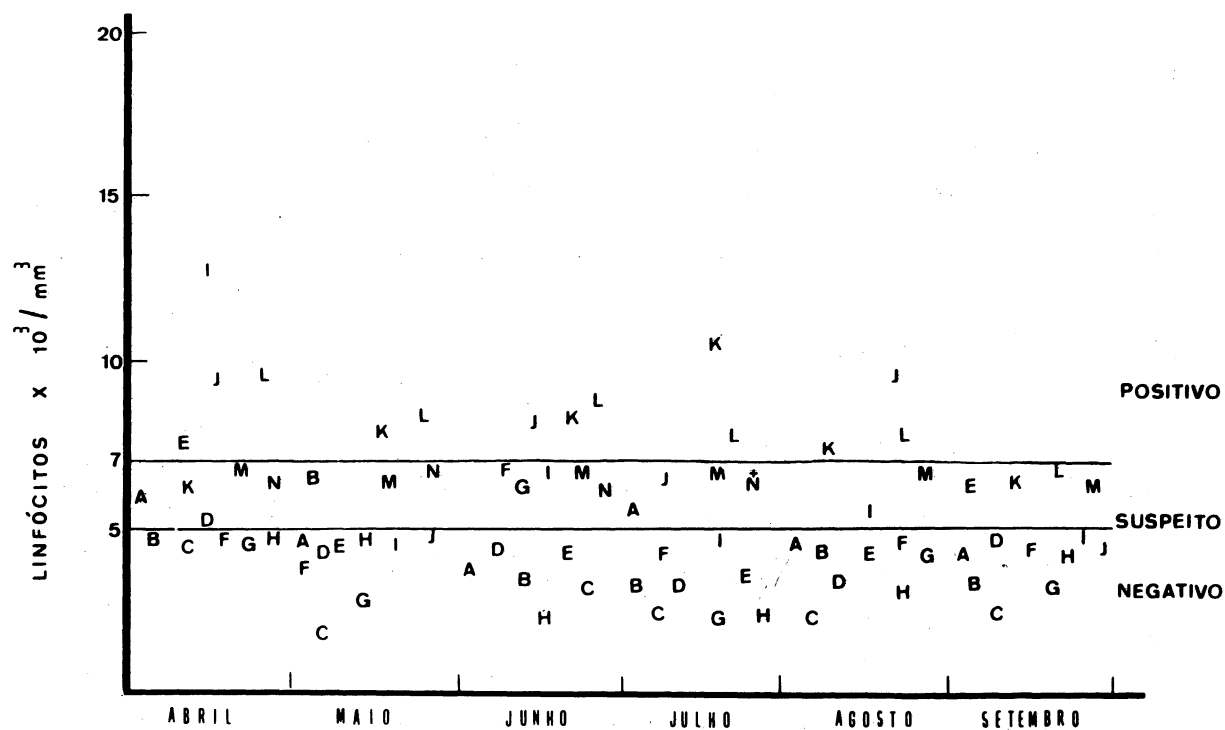


Fig. 3. Distribuição das contagens linfocitárias absolutas segundo a chave de Bendixen para leucose bovina, de 14 vacas livres de anticorpos contra o VLB, do rebanho B.

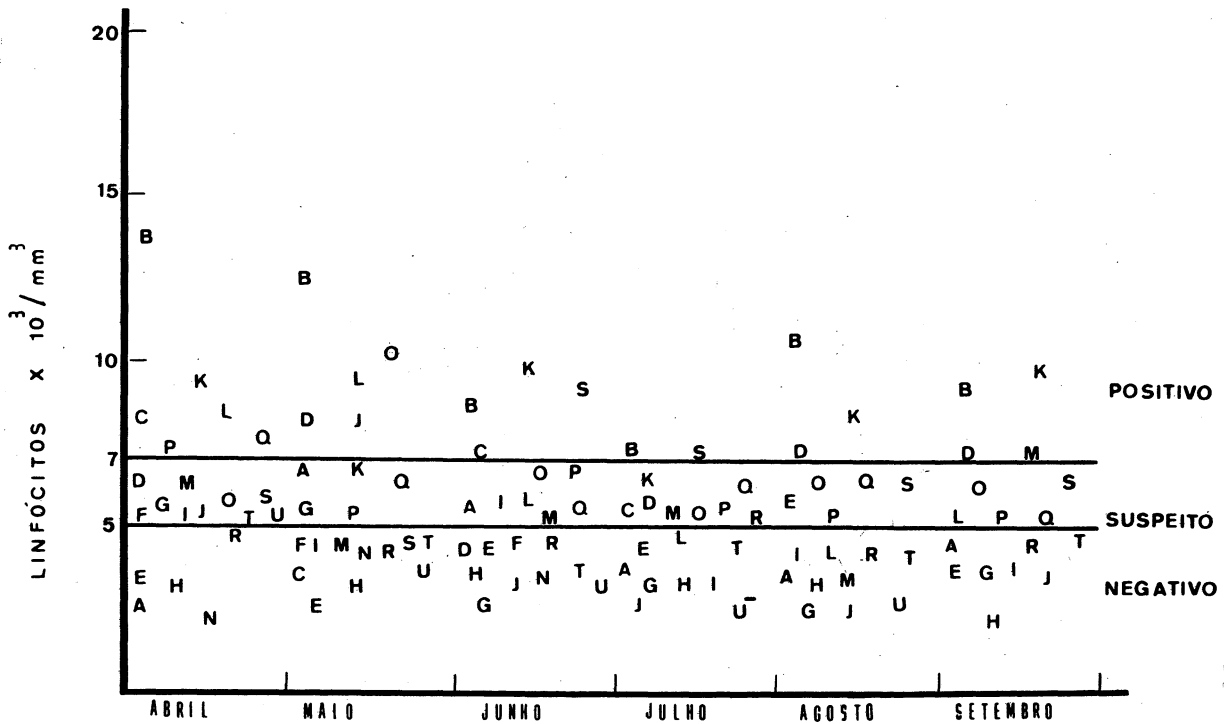


Fig. 4. Distribuição das contagens linfocitárias absolutas segundo a chave de Bendixen para leucose bovina, de 21 vacas com anticorpos contra gp51 do VLB, do rebanho B.

tagens linfocitárias absolutas das vacas sorologicamente positivas obter-se-ia apenas 31,6% de resultados positivos, 37,9% suspeitos e 30,5% de resultados falso-negativos. Já no rebanho B, observar-se-iam 17,1% de resultados falso-positivos, 28% suspeitos e 54,9% de resultados negativos nas vacas sorologicamente negativas e tão somente 20,5% de resultados positivos, 34,2% suspeitos e 45,3% de resultados falso-negativos, no grupo de vacas sorologicamente positivas.

Considerando-se que se apenas uma contagem linfocitária absoluta acima de 7.000 linfócitos por mm³ de sangue fosse suficiente para o diagnóstico do animal portador de LP, nenhum animal soro-negativo do rebanho A poderia ser classificado como positivo para LP. No grupo soro-positivo deste mesmo rebanho, 11 vacas (64,7%) poderiam ser classificadas como positivas, deixando de ser identificados como positivos seis animais (35,3%). No rebanho B, no grupo de animais sorologicamente negativos, cinco vacas (35,7%) apresentariam pelo menos uma contagem linfocitária absoluta elevada, sendo, portanto, classificadas erroneamente como positivas. Neste mesmo rebanho, dos animais soro-positivos, poder-se-ia classificar 11 vacas (52,4%) como positivas para a LP e 10 vacas (47,6%) não poderiam ser identificadas como tal, sendo por isto diagnosticadas como falso-negativas.

No Japão, estudos sobre as taxas de infecção de bovinos de corte da raça "Japanese Black Cattle" demonstraram que aproximadamente 16% dos bovinos apresentavam linfocitose enquanto que 60% possuíam anticorpos contra gp51 (Onuma et al. 1979). Dos animais com linfocitose, 88% possuíam anticorpos contra gp55 e 38,3% dos animais com contagens lin-

focitárias normais também os possuíam. Isto quer dizer que nem todos os bovinos que apresentam linfocitose estão infectados com o VLB e que quase 40% dos bovinos infectados, a julgar pela presença de anticorpos, não são identificados com uma avaliação hematológica. Estes resultados também parecem indicar que a soro-conversão acontece antes das desordens hematológicas. Resultados de pesquisas realizadas na Holanda (Ressang et al. 1976) confirmaram as restrições sérias das chaves hematológicas na identificação precoce de bovinos infectados com o VLB. Estudos similares na Alemanha Ocidental

Quadro 1. Chave de Bendixen para classificar bovinos com linfocitose persistente^(a)

Idade em anos	Contagem linfocitária absoluta por mm ³ de sangue		
	Negativo	Suspeito	Positivo
0 - 1	< 10.000	10.000-12.000	> 12.000
1 - 2	< 9.000	9.000-11.000	> 11.000
2 - 3	< 7.500	7.500- 9.500	> 9.500
3 - 4	< 6.500	6.500- 8.500	> 8.500
> 4	< 5.000	5.000- 7.000	> 7.000

(a) Bendixen 1960.

(Straub 1978) demonstraram a superioridade dos testes de imunodifusão com os antígenos p25 e gp51.

Os bovinos utilizados na presente pesquisa eram fêmeas mestiças zebu x holandês, maiores de quatro anos de idade e mantidos em sistemas de pastagens extensivos, o ambiente típico correspondente a uma região subtropical, na qual são abundantes os parasitismos por helmintos, artrópodos, insetos e hematozoários, entre outros. Sem dúvida, existiram oportunidades para as vacas em experimentação responderem a alguns destes elementos com respostas linfocitárias complexas e imprevisíveis, as quais poderiam ser interpretadas como devidas a infecção com o VLB. Na opinião de alguns autores, a LP dos animais infectados parece resultar de uma proliferação benigna de linfócitos B (Kenyon & Piper 1977) e em maioria os bovinos com esta linfocitose não desenvolvem a doença tumoral durante um período de oito anos (Abt et al. 1970). Estas observações indicam que a LP não é uma doença nem uma forma subclínica da LEB. Além disso, a LP deve ser diferenciada das linfocitoses transitórias que podem ocorrer em numerosas condições não associadas à LEB. Porém, Ferrer et al. (1979) afirmam que rebanhos com casos múltiplos de LEB contêm bovinos clinicamente normais mas com LP. Em alguns casos, o desenvolvimento de tumores linfóides é antecedido por esta LP, a qual pode persistir por vários anos. Bendixen (1960) interpretou suas observações originais acreditando que a LP e a LEB são duas respostas do hospedeiro frente a um mesmo agente etiológico, sendo que a LP corresponderia a uma forma subclínica da LEB. Pesquisas têm demonstrado que a LP e a LEB são influenciadas geneticamente e correspondem na verdade a respostas independentes de cada indivíduo frente a uma infecção com o VLB (Ferrer et al. 1979).

As chaves hematológicas para a LEB continuarão sendo úteis no diagnóstico da doença clínica quando os tumores já estão presentes no animal, mas sua utilização não é aconselhável no teste de bovinos para fins de importação e exportação, e em programas de controle e erradicação em regiões subtropicais devido a sua pouca sensibilidade, como revelou a presente pesquisa. O desenvolvimento da prova de imunodifusão em ágar gel para detectar anticorpos contra a glicoproteína maior gp51 do VLB como evidência desta infecção tem aprimorado os programas de controle da LEB constituindo-se, na atualidade, a prova oficialmente aceita e de maior utilização na identificação de bovinos infectados com o vírus da leucose enzoótica bovina no mundo inteiro. Os resultados de nosso trabalho confirmam em ambiente subtropical, a especificidade e sensibilidade da prova de imunodifusão.

Agradecimentos.- Agradecemos ao Dr. Gonzalo E. Moya pelas fotografias da distribuição das contagens linfocitárias absolutas. O presente trabalho contou com o auxílio financeiro (n.º 222.1969/77) do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brasil

REFERÊNCIAS

- Abt D.A., Marshak R.R., Kulp H.W. & Pollock R.J. 1970. Studies on the relationship between lymphocytosis and bovine leukosis. Proc. 4th Int. Symp. Comp. Leuk. Res. Bibliotheca Haematol. 36:527-536.
- Bendixen H.J. 1960. Untersuchungen ueber die Rinderleukose in Daenemark. II. Pathogenesis und Enzoootologie der uebertragbaren Rinderleukose. Dtsch. Tieraerztl. Wschr. 67:57-63.
- Ferreira M.I.C. 1982. A leucose bovina - Estudos hematológicos e sorológicos em bovinos do Estado do Rio de Janeiro. Tese de Mestrado, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro.
- Ferreira M.I.C., Romero C.H. & Rowe C.A. 1982. Estudo comparativo entre as provas de imunodifusão em placa e em lâmina na detecção de anticorpos contra o vírus da leucose enzoótica bovina. Pesq. Vet. Bras. 2(2):49-53.
- Ferreira Neto J.M., Viana E.S. & Magalhães L.M. 1975. Patologia clínica veterinária. Belo Horizonte, Minas Gerais, p. 46-87.
- Ferrer J.F., Marshak R.R., Abt D.A. & Kenyon S.J. 1979. Relationship between lymphosarcoma and persistent lymphocytosis in cattle: A review. J. Am. Vet. Med. Ass. 175:705-708.
- Kenyon S.C. & Piper C.E. 1977. Properties of density gradient-fractionated peripheral blood leukocytes from cattle infected with bovine leukemia virus. Infect. Immun. 16:898-903.
- Kettmann R., Portetelle D., Mammerickx M., Cleuter Y., Dekegel D., Galoux M., Ghysdael J., Burny A. & Chantrenne H. 1976. Bovine leukemia virus: an exogenous RNA oncogenic virus. Proc Natl Acad. Sci. U.S.A. 73:1014-1018.
- Miller L.D. 1980. Export testing for enzootic bovine leukosis. J. Am. Vet. Med. Ass. 177:620-622.
- Miller J.M., Miller L.D., Olson C. & Gillette K.G. 1969. Virus-like particles in phytohemagglutinin-stimulated lymphocyte cultures with reference to bovine lymphosarcoma. J. Natl Cancer Inst. 43:1297-1305.
- Miller J.M. & Van Der Maaten M.J. 1977. Use of glycoprotein antigen in the immunodiffusion test for bovine leukemia virus antibodies. Europ. J. Cancer 13:1369-1375.
- Muscoplat C.D., Johnson D.W., Pomeroy K.A., Olson J.M., Larson V. L., Stevens J.B. & Sørensen D.K. 1974. Lymphocyte surface immunoglobulin, frequency in normal and lymphocytotic cattle. Am. J. Vet. Res. 35:593-595.
- Onuma M., Ishihara K., Ohtani T., Honma T., Mikami T. & Izawa H. 1979. Seroepizootiological survey on antibodies against bovine leukemia virus in Japanese Black cattle. Jap. J. Vet. Sci. 41:601-605.
- Piper C.E., Ferrer J.F., Abt D.A. & Marshak R.R. 1979. Postnatal and prenatal transmission of the bovine leukemia virus under natural conditions. J. Natl Cancer Inst. 62:165-168.
- Ressang A.A., Ellens D.J., Mastenbroek N., Quak J., Miller J.M. & Van Der Maaten M.J. 1976. Studies on bovine leukemia. II. Haematological, serological, virological and electron microscopical diagnosis. Zbl. Vet. Med. B, 23:566-579.
- Romero C.H. & Rowe C.A. 1981. Enzoootic bovine leukosis virus in Brazil. Trop. Anim. Hlth Prod. 13:107-111.
- Straub O.C. 1978. Diagnosis of enzootic bovine leukosis: A comparison of haematological and immunodiffusion tests. Res. Vet. Sci. 25:13-15.

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Plumbago scandens* (Plumbaginaceae) EM BOVINOS¹

CARLOS HUBINGER TOKARNIA² E JÜRGEN DÖBEREINER³

ABSTRACT.- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1982. [Experimental poisoning of cattle by *Plumbago scandens* (Plumbaginaceae)]. Intoxicação experimental por *Plumbago scandens* (Plumbaginaceae) em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 2(3):105-112. Embrapa - Patologia Animal, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23460, Brazil.

Recently collected fresh leaves of *Plumbago scandens* L. (fam. Plumbaginaceae), a small shrub found in the State of Bahia, Brazil, commonly known as "louco" and believed to be poisonous to cattle, proved to be toxic when administered orally to 16 young bovines. The lethal dose was found to be 10 grams of the plant material per kg of bodyweight. First symptoms of poisoning were observed towards the end of the administration of the leaves or shortly thereafter. The seven animals which died showed clinical signs which lasted for 4 hours 45 min. to 20 hours, although in one, symptoms persisted for 6 days; in the animals which recovered, symptoms were evident for 6 hours to three and a half days. In the cases with lethal outcome, the animals died from 5 hours 15 min. to 6 days, and when they survived, they had recovered between 7 hours and three and a half days, after beginning of the administration of the plant. The symptoms of poisoning by *P. scandens* were quite uniform and consisted of salivation, slight to severe submandibular edema, dark-greyish appearance of the buccal mucosa, reddish-brown urine, absence of ruminal movements, anorexia, restlessness, and in most cases slight to pronounced meteorism. The main post-mortem findings were edema and thickening of the wall in the cranio-ventral portion of the rumen and in the reticulum. The epithelial layer of the rumen mucosa was easily detached, exposing the lamina propria with or without congestion. The mucosa of the oral cavity and esophagus was dark grey in color. The main histopathological finding was edema of the wall of the rumen and reticulum with the epithelium being detached.

It is not known whether *Plumbago scandens* is naturally eaten by cattle, and if so, in sufficient quantities to cause poisoning. Without this data the inclusion of *P. scandens* as a toxic plant of economic importance is not warranted.

INDEX TERMS: Poisonous plants, *Plumbago scandens*, Plumbaginaceae, experimental plant poisoning, cattle, pathology.

SINOPSE.- Folhas frescas recém-colhidas de *Plumbago scandens* L. (fam. Plumbaginaceae), pequeno arbusto vulgarmente conhecido por "louco" e tido como tóxico para bovinos na Bahia, foram administradas a 16 bovinos jovens, por via oral. A planta revelou-se tóxica para bovinos nos experimentos realizados. A dose letal foi de 10 gramas de folhas por quilograma de peso do animal. Os primeiros sintomas de intoxicação apareceram já durante a parte final da administração da planta ou logo após ela. A evolução do quadro clínico, nos sete animais que morreram, durou de 4 horas 45 min. a 20 horas, com exceção de um, em que foi de 6 dias; nos animais que se recuperaram, a evolução variou de 6 horas a 3 dias e meio. Nos casos

de êxito letal, os animais estavam mortos entre 5 horas 15 min. e 6 dias, nos casos em que os animais sobreviveram, eles estavam recuperados entre 7 horas e 3 dias e meio, após o início da administração da planta. Os sintomas de intoxicação por *P. scandens*, bastante uniformes, consistiram em leve a moderada sialorréia, leve a acentuado edema submandibular, coloração cinzento-escura da mucosa bucal, coloração marrom-avermelhada da urina, parada dos movimentos do rúmen, anorexia, moderada a acentuada inquietação e leve a acentuado timpanismo na maioria dos casos. Os principais achados de necropsia foram alterações nos proventrículos; o rúmen, em sua parte crânio-ventral, e o retículo apresentaram parede espessada por edema acentuado; no rúmen o epitélio podia ser retirado facilmente, deixando exposta a própria com ou sem congestão ou hemorragias; além disto, a mucosa bucal e a do esôfago tinham tomado coloração cinzento-escura. As principais alterações histopatológicas consistiram em edema da parede dos proventrículos com desprendimento de seu epitélio.

Não se conseguiu ainda verificar se *Plumbago scandens* é ingerido pelos bovinos, sob condições naturais, e conseqüentemente, se ocorrem casos de intoxicação que permitiriam in-

¹ Aceito para publicação em 25 de janeiro de 1982.

Apresentado no XVI Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Salvador, Bahia, 22 a 27 de outubro de 1978.

² Departamento de Nutrição Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23460; bolsista do CNPq (1111.5010/76).

³ Unidade de Pesquisa de Patologia Animal, EMBRAPA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23460.

cluir este arbusto entre as plantas tóxicas para o gado, sob o ponto de vista agropecuário.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, *Plumbago scandens*, Plumbaginaceae, intoxicação experimental por planta, bovinos, patologia.

INTRODUÇÃO

O pequeno arbusto *Plumbago scandens* L., da família Plumbaginaceae, planta do Nordeste vulgarmente conhecida por "louco", é tido como planta tóxica para bovinos na Bahia; os animais mostrariam sintomas semelhantes aos observados na raiwa, de acordo com uns, ou teriam morte súbita, de acordo com outros; a ingestão da planta ocorreria especialmente na rebrota, quando a planta apresentaria maior palatabilidade, nos períodos de formação de pastagens, na troca de pastos, em animais em viagem e em animais novos na região (J.A. de Almeida 1971, comunicação pessoal). Hoehne (1939), mencionando *P. scandens*, diz que esta espécie é merecedora de estudo devido ao próprio nome vulgar ("louco"), que na América do Norte é aplicado a espécies do gênero *Lupinus* que aduzem sintomas mórbidos caracterizados por uma espécie de loucura nos animais herbívoros. Diz que, ao lado de *P. scandens*, outras espécies, exóticas, do gênero *Plumbago*, são apontadas como vesicantes. Conclui que não é descabida a hipótese de que também o "louco" do Nordeste do Brasil possa aduzir envenenamentos graves no gado. Corrêa (1926) diz que as folhas de *P. scandens* são cáusticas e que são freqüentemente aplicadas pelos curandeiros sertanejos na nuca de pessoas atacadas de doenças mentais. Braga (1960) informa que o suco das folhas e raízes de *P. scandens* é tido como tóxico e é empregado na destruição de verrugas. Informa ainda que as folhas são cáusticas e as raízes excessivamente acres, e que os curandeiros aplicam sinapismos das folhas na nuca dos insanos, vindo daí o nome de "louco". Desta maneira, é dada uma explicação diferente da de Hoehne (1939), acima mencionada, para o nome popular da planta.

Referências sobre a possível toxicidade para animais encontramos ainda em relação a duas outras espécies de *Plumbago*. Watt e Breyer-Brandwijk (1962) informam que as folhas de *P. capensis* Thunb., na África do Sul, são bem aceitas por aves e animais domésticos, especialmente ovinos, porém sob certas condições, bem definidas, elas se tornam tóxicas para animais. Webb (1948) informa que *P. zeylanica* L. tem sido relatada como causadora de mortes em ovelhas prenhes, na Austrália.

Diversos outros autores falam ainda no uso medicinal de diversas espécies de *Plumbago*, salientando também a ação cáustica e irritante da planta, sobretudo de sua raiz (Arnold 1944, Webb 1948, Chopra et al. 1949, Völker 1950, Watt & Breyer-Brandwijk 1962).

O presente trabalho foi realizado para caracterizar o quadro clínico e patológico da intoxicação por *Plumbago scandens* em bovinos bem como para determinar as doses tóxicas, com o fim de fornecer dados que permitam aquilatar a possível importância da planta como causa de mortes em bovinos sob condições naturais.

MATERIAL E MÉTODOS

As folhas de *Plumbago scandens* L.⁴ frescas recém-colhidas foram administradas por via oral a 16 bovinos jovens desmamados com, no máximo, 2 anos de idade. Foram feitas administrações únicas de quantidades que variaram entre 2,5 a 16,7 g/kg. As folhas eram sempre colhidas no mesmo dia, pouco antes da administração, na área do Km 47, município de Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro, onde fora plantado material procedente da Bahia. Os animais eram mantidos em boxes individuais, recebendo como alimentação forragem verde picada e ração concentrada para bovinos. Água receberam à vontade. Os bovinos eram examinados e observados durante os experimentos, com tomada de temperatura e auscultação do coração, pulmão e rúmen. Nos casos de timpanismo moderado ou acentuado era introduzida sonda esofagiana no rúmen para a eliminação de gases. Nos casos de morte fazia-se imediatamente a necropsia, complementada posteriormente por exames histopatológicos; para isto, fragmentos de tecidos eram incluídos em parafina, cortados por micrótomo, e corados pela hematoxilina-eosina.

RESULTADOS

Os principais dados sobre os experimentos com as partes aéreas de *Plumbago scandens* L. encontram-se no Quadro 1. Pormenores sobre os experimentos em que os bovinos mostraram sintomas são fornecidos a seguir.

Bovino 2903, macho, mestiço holandês preto e branco, com 165 kg, recebeu em 16.3.71 (13.55 às 14.10 h), 760 g (= 4,6 g/kg) de folhas de *Plumbago scandens* recém-colhidas de planta sem inflorescências ou sementes. Logo após a administração e durante o resto do dia e no dia seguinte todo teve leve anorexia.

Bovino 3562, fêmea, mestiço holandês preto e branco, com 117 kg, recebeu em 7.1.75 (13.30 às 14.10 h), 2130 g (= 16,7 g/kg) de folhas de *P. scandens* recém-colhidas de planta sem inflorescências ou sementes. Após a administração apresentou sialorréia e não quis mais comer capim e ração dados; teve leve edema submandibular. Depois ficou deitado em posição esternal; às 17.30 h com o pescoço esticado para a frente; tocado, custou a levantar-se e teve andar lerdo. Às 18.00 h continuava em pé, com a superfície do corpo fria, temperatura (T) 38,5°C, freqüência cardíaca (P) 100 por minuto, freqüência respiratória (R) 56 por minuto, rúmen sem movimentos. Às 20.30 h estava ainda em pé, com a superfície do corpo fria; cabeça apoiada no bebedouro, pescoço em torcicolo; T 38,0, P 144, R 72, rúmen sem movimentos. Tocado, deitou-se rapidamente após aproximadamente 20 m, e não se levantou mais. Às vezes ficava com o pescoço esticado para a frente com o queixo no chão, outras vezes com a cabeça levantada com o pescoço em torcicolo. A partir das 21.35 h, adicionalmente às vezes tombava de lado, quase passando a decúbito lateral, batia com os membros, mas voltava logo à posição esterno-abdominal (cólica). Respiração acelerada, expiração com gemidos. Cada vez mais irrequieto. Das 22.30 às 22.45 h balan-

⁴ Identificação botânica feita pela Dra. Graziela Maciel Barroso, Jardim Botânico do Rio de Janeiro, que também forneceu a descrição botânica resumida.

Plumbago scandens L.

Arbusto com ramos subscandentes; folhas alternas, oblongo-lanceoladas; flores alvas, dispostas em espigas terminais eretas; corola hipocrateriforme, com tubo longo; estames 5; estilete 5-partido.

cou algumas vezes a cabeça em sentido horizontal. Às 22.49 h teve uma crise de muita agitação mas de curta duração, balançando fortemente todo o corpo e a cabeça. Ficou então tranqüilo, encostando a cabeça no flanco direito. Às 22.55 h, T 37,4, P 72, R 60, rúmen sem movimentos; superfície do corpo fria. Eliminou fezes pastosas. Das 23.06 h em diante passava períodos deitado de lado, outros em posição esternal, balançando a cabeça horizontalmente ou enconstando-a no flanco. Às 23.53 h caiu definitivamente em decúbito lateral direito, ocasionalmente fazendo movimentos de pedalagem. Às 23.58 h, após uma contração geral do corpo todo, parou a respiração, e às 0.03 h, o coração. — *Achados de necropsia*: a mucosa da boca, especialmente das gengivas, da língua, nesta última sobretudo nas partes posteriores dorsais, do esôfago e de todo o rúmen, com coloração preta; esôfago com edema gelatinoso de intensidade moderada na submucosa; a maior parte das folhas administradas achava-se na parte do rúmen próxima ao sulco esofágico; nessa parte o epitélio desprendia-se com facilidade quando era raspado ou puxado, a própria tinha coloração rósea (leve congestão) e toda a parede até a serosa apresentava edema gelatinoso acentuado, alcançando a parede do rúmen até 1 cm de espessura; também em outras partes do rúmen havia áreas em que o epitélio se soltava com alguma facilidade e onde havia leve edema da parede ruminal; retículo, sem alterações; mucosa do coagulador com congestão difusa acentuada; baço túrgido, com edema de sua cápsula na parte em contato com o rúmen; diafragma com edema gelatinoso em áreas de sua parte muscular. — *Exames histopatológicos* (SAP 21757) revelam coloração marrom-clara das camadas superficiais queratinizadas do epitélio da língua, do rúmen e, em grau bem menor, do esôfago; em algumas áreas do estrato lúcido do epitélio do esôfago, vacuolização das células epiteliais; no rúmen, em toda a sua parede, na própria, submucosa, muscular e serosa, edema acentuado e infiltrados polimorfonucleares em quantidade regular, na própria, congestão; no baço, congestão acentuada, em muitos folículos quantidade pequena a moderada de detritos celulares; em folículos linfóides na submucosa do intestino, grande quantidade de detritos celulares; no pulmão, edema interlobular.

Bovino 3581, macho, mestiço holandês preto e branco, com 95 kg, recebeu em 26.2.75 (10.35 às 11.35 h), 1520 g (16 g/kg) de folhas de *P. scandens* recém-colhidas de planta sem inflorescências e sementes. Após a administração não quis comer capim e ração. Ficou lambendo os beijos. Às 12.20 h, tinha leve sialorréia. A partir de 13.00 h notava-se leve timpanismo e inquietação do animal, que se deitava e levantava seguidamente; quando deitado, às vezes ficava por alguns instantes em decúbito lateral parcial. Às 13.40 h, T 38,9, P 120, R 16, rúmen sem bracejos. Eliminação de pequena quantidade de urina de coloração castanho-avermelhada. Timpanismo moderado. A partir das 15.00 h ficou bastante tempo deitado, às vezes parcialmente em decúbito lateral. Expiração sob forma de gemidos. Às 15.45 h eliminou novamente pequena quantidade de urina de coloração marrom-avermelhada. Às 16.30 h, T 40,1, P 180, R 56, rúmen sem bracejos, orelhas e extremidades frias, focinho seco. Espaço submandibular com leve edema. Às 16.35 h foi aliviado um pouco o timpanismo através de sonda esofágica. Às 17.30 h encontrava-se em decúbito esterno-abdominal e às 19.00 h foi encontrado morto, com timpanismo acentuado, devendo ter morrido poucos minutos antes. — *Achados de necropsia*: mucosa da língua e da boca, principalmente da gengiva, bem como do esôfago, em toda a sua extensão, com coloração preta; os últimos 5 cm distais da parede do esôfago com edema acentuado; rúmen, externamente na região ao redor do cárdia, com edema gelatinoso difuso acentuado; à abertura do rúmen escapou grande quantidade de gases e verificou-se que a maior parte da planta administrada se encontrava na região próxima ao cárdia; nesta parte, a parede do rúmen estava muito espessada por edema gelatinoso, alcançando até 2 cm de espessura; o epitélio do rúmen podia ser retirado facilmente, especialmente nestas partes, expondo a própria avermelhada; algumas áreas da parede do retículo com edema; mucosa do coagulador com congestão acentuada difusa, e a do intestino delgado, com congestão em faixas transversais; baço túrgido; rins, na superfície e ao corte, com coloração mais escura que o normal; bexiga com pequena quantidade de líquido marrom-escuro. — *Exames histopatológicos* (SAP 21805-10) revelam, nas placas de Peyer, regular quan-

tidade de detritos celulares; em diversos linfonodos, leve edema geral, sem haver detritos celulares; no epitélio da língua e do esôfago, na altura do estrato lúcido, células epiteliais tumefactas e com o citoplasma mais claro; no rúmen, forte congestão e edema da própria com início de desprendimento do epitélio em algumas áreas, não havendo infiltrados inflamatórios; no retículo, acentuado edema da própria, com início de desprendimento do epitélio; há infiltração leve da própria por polimorfonucleares, principalmente logo abaixo do epitélio e próximo à muscular; no baço, congestão moderada.

Bovino 3582, macho, mestiço holandês preto e branco, com 105 kg, recebeu em 30.4.75 (9.25 às 9.50 h), 1050 g (= 10g/kg) de folhas de *P. scandens* recém-colhidas de planta sem inflorescências ou sementes. Após a administração o animal ficou lambendo os beijos, bebeu bastante água e ficou comendo capim devagar, parando após pouco tempo. Às 11.30 h a urina eliminada pelo animal tinha cor escura. Às 14.40 h conseguiu-se coletar urina, que tinha coloração marrom acentuada; T 39,3, P 100, R 32, rúmen com bracejos de intensidade moderada, um em cada 2 minutos (1/2 min.). Não comeu mais nada. Não tinha timpanismo. Continuou nesse estado o resto do dia, sempre bem esperto. No dia seguinte, 1.5.75, às 7.00 h, a urina tinha a mesma coloração marrom intensa; T 39,1, P 88, R 20, rúmen com bracejos moderados, 2/2 min. Durante o dia todo comeu capim, mas pouco. Sempre esperto, com fezes normais. Às 14.00 h a urina já era bem mais clara. Em 2.5.75, às 7.00 h, a urina tinha coloração amarela normal. O animal estava esperto, com fezes normais, T 38,9, P 88, R 24; bracejos do rúmen de intensidade moderada, 2/2 min. Durante o dia todo o animal comia regularmente a bem. Em 3.5.75 estava completamente restabelecido, com apetite bom.

Bovino 3583, fêmea, mestiço holandês preto e branco, com 139 kg, recebeu em 30.12.75 (8.30 às 9.00 h), 1500 g (= 10,8 g/kg) de folhas de *P. scandens* recém-colhidas de planta sem inflorescências ou sementes. Depois da administração tinha um pouco de saliva espumosa ao redor da boca; oferecido capim, comeu devagar, mas a partir das 9.30 h comeu bem. Às 10.00 h eliminou urina de coloração castanho-escuro. Às 13.00 h, T 38,7, P 72, R 28; rúmen com bracejos fortes, 2/2 min. Na parte da tarde não quis mais comer, mas conservou-se sempre esperto. No dia seguinte, 31.12.76, às 7.30 h, estava esperto, T 38,6, P 80, R 16; rúmen com bracejos fortes, 1/2 min. Às 10.45 h eliminou urina ainda com coloração amarelo-escuro. Até às 16.00 h comeu o capim oferecido devagar, mas a partir de então estava com apetite restabelecido e o rúmen com bracejos fortes, 3/2 min. Recuperado.

Bovino 3588, macho, mestiço holandês preto e branco, com 92 kg, recebeu em 8.7.76 (9.25 às 10.10 h), 1000 g (= 10,8 g/kg) de folhas de *P. scandens* recém-colhidas de planta em plena floração e frutificação. Das 10.40 h até as 13.45 h esteve muito irrequieto, pisoteando constantemente o chão no mesmo local, deitando-se, e levantando-se logo em seguida; neste período deitou-se e levantou-se 74 vezes. Das 13.15 h em diante esteve mais calmo. Às 13.45 h eliminou urina de coloração marrom-avermelhada. O abdômen apresentou-se estufado e o animal tinha flatulência. Não comeu durante o dia inteiro o capim e a ração fornecidos. No dia seguinte, 9.7.76, na parte da manhã, eliminou urina escura. Às 8.50 h, T 38,9, P 120, R 20, rúmen sem bracejos, com leve timpanismo, fezes normais, extremidades um pouco frias. Presença de leve mas nítido edema submandibular. Não comeu nada durante o dia todo, mas tinha aspecto esperto. Em 10.9.76 esteve esperto o dia todo, mas não comeu nada. O rúmen continuou sem bracejos, não havia mais timpanismo, a urina estava com coloração normal, tinha desaparecido o edema submandibular. As fezes estavam um pouco ressequidas. Em 11.9.76 continuou no mesmo estado; tinha o focinho seco. Em 12.9.76 continuou no mesmo estado, tinha leve timpanismo e apresentou às vezes tremores musculares no flanco. Em 13.9.76 continuou com anorexia, eliminou poucas fezes, e tinha leve timpanismo. Em 14.9.76 amanheceu morto em posição esterno-abdominal com a cabeça encostada no flanco. — *Achados de necropsia*: mucosa da bexiga com grande número de petéquias finas; bile escura e viscosa; rúmen com grande quantidade de conteúdo bastante líquido; em algumas áreas, na sua par-

te ventral, havia necrose difteróide da mucosa; em outras o epitélio podia ser retirado quando puxado, estando aderido levemente por fibrina; e em outras partes o epitélio estava bem aderido, verificando-se ao corte que havia edema da parede do rúmen, causando seu espessamento; retículo e folhoso sem alterações; coagulador com a mucosa bem congesta, mas sem edema; intestino delgado praticamente vazio e sem congestão; intestino grosso com pouquíssimo conteúdo pastoso. — *Exames histopatológicos* (SAP 22087) revelam, no baço, moderada congestão, no rúmen, necrose da mucosa com infiltração de células redondas.

Bovino 3591, macho, mestiço holandês preto e branco, com 76 kg, recebeu em 8.7.76 (10.20 às 10.45 h), 380 g (= 5 g/kg) de folhas de *P. scandens* recém-colhidas de planta em plena floração e frutificação. Às 11.30 h eliminou urina escura. A mucosa bucal estava com coloração marrom, sem edema. Das 11.30 às 13.15 h estava muito irrequieto, deitando-se e levantando-se seguidamente, às vezes ficando até deitado meio de lado; neste período deitou-se e levantou-se aproximadamente 50 vezes. Das 13.15 h em diante esteve mais calmo. Às 15.25 h eliminou urina escura. Às 15.30 h, T 39,5, P 80, R 24; rúmen com bracejos fracos, 2/2 min. Estava calmo. Não comeu nada o dia todo, tinha fezes sempre normais, e não mostrou timpanismo. No dia seguinte, 9.7.76, às 6.00 h, o animal eliminou urina escura. Às 9.00 h, T 38,9, P 84, R 28, rúmen parado. A mucosa da boca tinha coloração marrom-avermelhada. Apresentava forte edema submandibular, saliva pingando pela boca, focinho seco. Não comeu nada o dia todo. Não apresentou timpanismo. As fezes permaneceram normais. Em 10.7.76, às 10.00 h, T 37,8, P 80, R 16; rúmen com bracejos de intensidade regular, 3/2 min. Edema submandibular moderado, mucosa da boca ainda levemente corada em marrom-avermelhado. Comeu pouco durante o dia. Em 11.7.76, ainda com os movimentos do rúmen de intensidade somente moderada; quase sem edema submandibular; comeu regularmente, fezes um pouco ressequidas. Em 12.7.76 de manhã estava restabelecido.

Bovino 3993, macho, mestiço holandês preto e branco, com 148 kg, recebeu em 8.6.77 (10.00 às 10.30 h), 1480 g (= 10 g/kg) de folhas de *P. scandens* recém-colhidas de planta em plena fase de floração e frutificação. Aproximadamente na metade da administração o animal começou a salivar. Após completada a administração não comeu o capim dado. Às 11.07 h e às 11.15 h eliminou urina marrom-avermelhada. Entre 11.15 e 15.30 h mostrou grande inquietação, caracterizada por não ficar parado no box, estar sempre andando, às vezes pisoteando o chão no mesmo local; às vezes o animal raspava o chão com a mão, batia com as pernas contra o abdômen, levantava a cauda sem defecar, porém expelindo gases, às vezes ameaçava deitar-se, mas após baixar a parte anterior voltava a ficar em pé; outras vezes deitava-se ora em posição esterno-abdominal, ora meio de lado, ora completamente de lado, mas sempre ficando durante pouco tempo nestas posições e levantando-se logo em seguida. Entre 11.15 e 15.30 h deitou-se e levantou-se aproximadamente 55 vezes. Das 11.45 às 14.15 h a inquietação alcançou sua maior intensidade, diminuindo então progressivamente. Às 15.30 h o animal já estava muito menos irrequieto. T 37,7, P 68, R 44, rúmen sem movimentos de bracejo, extremidades frias. O animal não tinha timpanismo. As fezes eram normais. Eliminou urina de coloração vermelho-marrom às 13.39 e às 14.02 h. Após 15.30 h continuou, ora em pé, ora em posição esterno-abdominal, durante muito tempo com a cauda levantada, eliminando às vezes pequena quantidade de fezes e muitos gases. Às 20.35 h, T 36,6, P 152, R 40, rúmen sem bracejos, focinho seco e a superfície de todo o corpo fria. Estava em decúbito esterno-abdominal. Em 9.6.77, às 6.00 h, foi encontrado em decúbito lateral, com a respiração lenta e difícil. Às 6.15 h morreu, calmamente. — *Achados de necropsia*: mucosa da base da língua e de todo o esôfago com coloração levemente marrom-escura; cavidades torácica e abdominal, com presença de pequena quantidade de líquido citrino; quase toda a parede do rúmen, principalmente na porção crânio-dorsal, com edema gelatinoso citrino acentuado; algumas áreas, no saco ventral, sem epitélio (ausência de congestão da própria e de membranas difteróides); presença de folhas inteiras de *P. scandens* no conteúdo ruminal; mucosa do retículo com pequenas vesículas; íleo, cujo conteúdo estava bastante ressequi-

do e levemente embebido de sangue, com áreas de congestão na mucosa; intestino grosso com lesões semelhantes; bexiga com pequena quantidade de urina de coloração marrom-escura; rins com coloração ligeiramente marrom; baço ligeiramente aumentado; no epicárdio da aurícula esquerda e no endocárdio de ventrículo esquerdo, equimoses e suflusões. — *Exames histopatológicos* (SAP 22358) revelam, na língua, coloração levemente castanha das camadas superficiais do epitélio; rúmen e retículo com edema na serosa, muscular, submucosa e própria, com desprendimento do epitélio e infiltrados moderados de polimorfonucleares na própria e submucosa; no fígado, vacuolização difusa moderada do parênquima; baço com congestão moderada e com processos necrobióticos moderados nos folículos linfóides e na polpa vermelha; hemorragias extensas no endocárdio.

Bovino 4119, macho, mestiço holandês preto e branco, com 140 kg, recebeu em 8.6.77 (13.00 às 13.10 h), 350 g (= 2,5 g/kg) de folhas de *P. scandens* recém-colhidas de planta que estava em plena fase de floração e frutificação. Às 14.00 h notou-se que o animal não comia o capim e a ração dados. Às 16.30 h tinha eliminado urina de coloração marrom-avermelhada; não comeia. Às 20.45 h, T 38,7, P 116, R 12, rúmen sem movimentos de bracejo; a urina tinha coloração marrom-avermelhada; defecava frequentemente. Estava esperto. No dia seguinte de manhã não apresentou mais quaisquer sintomas de intoxicação.

Bovino 4122, macho, mestiço holandês preto e branco, com 107 kg, recebeu em 25.11.76 (9.42 às 10.05 h), 535 g (= 5 g/kg) de folhas de *P. scandens* recém-colhidas de planta que estava com algumas inflorescências e sementes. Logo após o término da administração, a mucosa da boca do animal estava com coloração marrom-avermelhada e havia um pouco de espuma ao redor da boca. Às 10.50 h, quando foi dado capim, comeu um pouco, mas logo parou. Às 11.15 h notou-se leve edema submandibular, e às 11.16 h o animal eliminou urina com coloração vermelho-castanha. A partir das 12.50 h passou a maior parte da tarde deitado em posição esterno-abdominal. Às 16.00 h, T 39,3, P 100, R 20; rúmen com movimentos de bracejo de intensidade moderada, 1/2 min., e extremidades frias, edema submandibular moderado. Não comeu nada o dia todo. No dia seguinte, 26.11.76, às 8.30 h, T 38,9, P 88, R 20; rúmen 1/2, moderado. Às 8.30 h eliminou urina de coloração normal. Tinha edema submandibular moderado e a mucosa da língua estava enegrecida. Não comeu quase nada o dia todo. Em 27.4.76, rúmen com movimentos de bracejo fracos, 1/2 min. Comeu pouco o dia todo, expelindo fezes bem ressequidas. O edema submandibular era leve e a mucosa da língua tinha coloração normal. Em 28.11.76 de manhã ainda estava com as fezes um pouco ressequidas. Às 10.00 h foi considerado restabelecido.

Bovino 4123, macho, mestiço holandês preto e branco, com 116 kg, recebeu em 25.11.76 (8.50 às 9.25 h), 1160 g (= 10 g/kg) de folhas de *P. scandens* recém-colhidas de planta que estava com algumas inflorescências e sementes. No final da administração, esta já era um pouco difícil. Às 9.30 h o animal tinha espuma pela boca e eliminava, por gotejamento, urina com coloração vermelho-castanho-escura. Não comeu o capim oferecido. A partir das 10.20 h mostrou grande inquietação, pisoteando o chão sempre no mesmo lugar. Às 10.35 h deitou-se, passando logo ao decúbito lateral esquerdo e batendo com as pernas. Às 10.40 h levantou-se. Continuou a repetir a seqüência decúbito esterno-abdominal, decúbito lateral batendo com as pernas, em pé pisoteando no mesmo local, em ritmo bastante rápido, até às 12.00 h, quando ficou durante mais tempo em posição esterno-abdominal. Às 12.35 h notou-se leve timpanismo. Às 13.00 h, quando tocado, custou a levantar-se; T 39,1, P 144, R 48, rúmen parado, leve edema submandibular, extremidades frias e muco escorrendo pela boca. Deitou-se e levantou-se algumas vezes até às 14.07 h, quando estava em pé, balançando muito; com andar fortemente desequilibrado. Deitou-se rapidamente, meio caindo. Pescou em torcicolo. Balanço da cabeça para a direita e para a esquerda. Respiração ofegante. Logo em seguida caiu de lado; com opistótono; fez alguns movimentos de pedagem com os membros e às 14.15 h estava morto. — *Achados de necropsia*: na cavidade abdominal,

presença de aproximadamente 2 litros de líquido seroso levemente amarelado; endocárdio do ventrículo esquerdo com algumas equimoses; baço levemente aumentado, firme; leve edema submandibular gelatinoso; mucosa da língua e das bochechas, bem como do esôfago, de coloração preta; face ventral da língua com leve edema gelatinoso; parede do rúmen, na região do sulco esofágico e imediações, com forte edema gelatinoso, em alguns lugares alcançando até 5 cm de espessura; o epitélio, nestas partes edemaciadas, podia ser retirado facilmente; a própria, nestes locais, tinha coloração esbranquiçada; a parede do retículo, em toda a sua extensão, com espessura de 1 cm por edema gelatinoso; bexiga com pequena quantidade de urina de cor marrom enegrecida. — *Exames histopatológicos* (SAP 22235) revelam, nas camadas superficiais do epitélio da língua, coloração castanho-clara; no rúmen e no retículo, forte edema de todas as camadas de sua parede, com desprendimento do epitélio e pequenos focos de polimorfonucleares na própria.

Bovino 4124, macho, mestiço holandês preto e branco, com 139 kg, recebeu em 10.2.77 (9.00 às 9.25 h), 695 g (= 5 g/kg) de folhas de *P. scandens*, recém-colhidas de planta sem inflorescências e sem sementes. Logo após o término da administração, o animal apresentou sialorréia moderada; ao exame da cavidade bucal verificou-se que esta estava

com coloração cinzento-preta. Oferecidos capim e ração, mostrou interesse pela comida, porém não comeu nada. Às 9.45 h percebia-se leve edema submandibular. Às 9.50 h eliminou urina com coloração marrom-avermelhada. A partir das 10.05 h ficou um pouco irrequieto; pisoteava o chão no mesmo lugar, batia com as pernas no abdômen, deitava-se, gemia às vezes, levantava-se de novo. Às 10.23, 11.23 e 12.02 h eliminou urina de cor marrom. A partir das 11.20 h notou-se leve timpanismo. A partir das 11.41 h notou-se edema submandibular moderado. Até às 12.40 h deitou-se e levantou-se oito vezes. Às 12.40 h deitou-se de lado, às 12.50 h passando à posição esterno-abdominal. Às 13.08 h, quando tocado, levantou-se logo. Estava com timpanismo moderado. Às 13.10 h deitou-se em posição esterno-abdominal, porém de vez em quando ficava deitado de lado, sempre por pouco tempo de cada vez, e gemia às vezes. Até às 14.03 h deitou-se e levantou-se mais 5 vezes. Às 14.03 h estava em pé, T 39,3, P 160, R 40, rúmen sem movimentos, com timpanismo moderado a acentuado. Continuou a deitar-se e levantar-se de vez em quando. Às 14.55 h o timpanismo era acentuado; introduzida sonda esofágica, houve saída de gases, com bastante pressão. Só foi removida parte dos gases. Às 15.05 h repetiu-se a operação. O animal ficou em posição esterno-abdominal, com a cabeça encostada no flanco. Uma tentativa de colocá-lo em pé não alcançou êxito, pois não firmava os pés. Às 15.15 h o animal tomou o decúbito

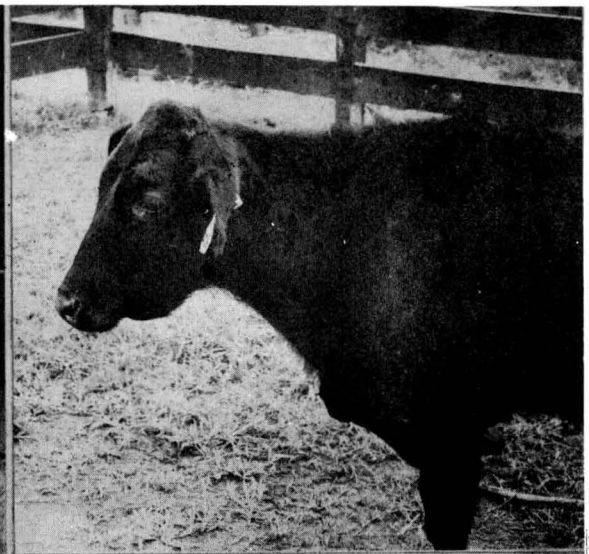
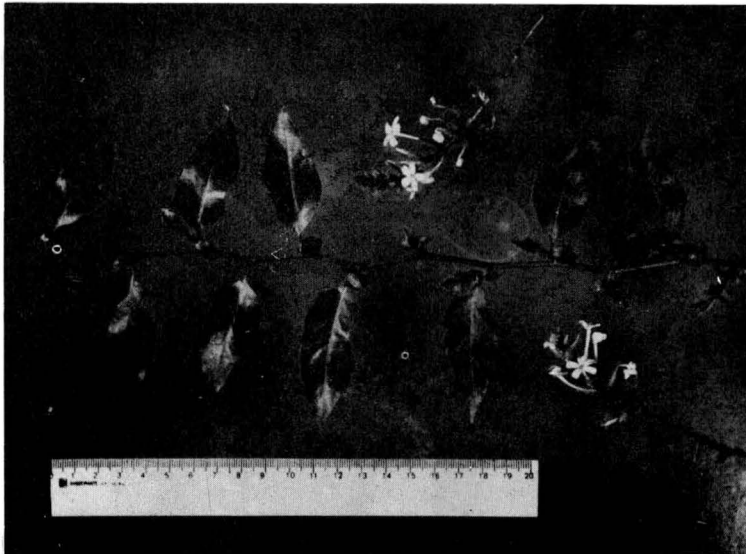


Fig. 1. *Plumbago scandens* L., com as flores brancas e sementes.

Fig. 2. Edema submaxilar na intoxicação experimental por *P. scandens*. (Bovino 3591)

Fig. 3. Edema acentuado na própria e submucosa do rúmen na intoxicação experimental por *P. scandens* (Bov. 4124). SAP 22301, H.-E., Obj. 4.

Fig. 4. Edema acentuado na própria e submucosa do retículo na intoxicação experimental por *P. scandens* (Bov. 4124). SAP 22303, H.-E., Obj. 4.

Quadro 1. Intoxicação experimental em bovinos com as folhas frescas recém-colhidas de *Plumbago scandens* L.

Bovino		Planta administrada				Sintomas													
Nº (SAP)	Peso kg	Quantidade g	Dose g/kg	Data	Fase de crescimento	Intensidade	Duração da administração	Início dos sintomas após começo da administração da planta	Duração dos sintomas	Animal recuperado após início da administração da planta	Morte após início da administração da planta	Sialorréia	Edema submandibular	Mucosa bucal enegrecida	Urina escura	Anorexia	Parada do rúmen	Irrequieto (cólica)	Timpanismo
2852	119	300	2,5	16.12.70	Sem inflorescências ou sementes	s.s. ^(a)	10min	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2903	165	760	4,6	16.3.71	"	+	15min	15min	28h15min	28h30min	-	-	-	-	-	+	-	-	-
3562 (21757)	117	2130	16,7	7.1.75	"	Morreu	40min	40min	9h50min	-	10h30min	+	+	+++	-	+++	+++	++	-
3581 (21805-10)	95	1520	16,0	26.2.75	"	Morreu	60min	60min	6h30min	-	7h30min	+	+	+++	+++	+++	+++	++	++S
3582	105	1050	10,0	30.4.75	"	++	25min	25min	21h05min	21h30min	-	-	-	-	+++	++	++	-	-
3583	139	1500	10,8	30.12.75	"	+	30min	30min	24h	24h30min	-	+	-	-	+++	+	+	-	-
3588 (22087)	92	1000	10,8	8.7.76	Em plena fase de floração e frutificação	Morreu	45min	49min	6 dias	-	6 dias	-	+	-	+++	+++	+++	+++	+
3591	76	380	5,0	8.7.76	"	+++	25min	1h10min	3 dias e meio	3 dias e meio	-	+	+++	++	+++	+++	+++	+++	-
3993 (22358)	148	1480	10,0	8.6.77	"	Morreu	30min	15min	20h	-	20h15min	+	-	-	+++	+++	+++	+++	-
3996	148	370	2,5	10.2.77	Sem inflorescências ou sementes	s.s.	10min	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4119	140	350	2,5	8.6.77	Em plena fase de floração e frutificação	+	10min	60min	6h	7h	-	-	-	-	+	+	+	-	-
4122	107	535	5,0	25.11.76	Com algumas inflorescências e sementes	+(+)	23min	23min	3 dias	3 dias	-	+	++	+++	+++	++	++	-	-
4123 (22235)	116	1160	10,0	25.11.76	"	Morreu	35min	40min	4h45min	-	5h25min	+	-	-	+++	+++	+++	+++	+
4124 (22301-02)	139	695	5,0	10.2.77	Sem inflorescências ou sementes	Morreu	25min	25min	6h05min	-	6h30min	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++S
4125	161	800	5,0	8.6.77	Em plena fase de floração e frutificação	++	15min	10min	1 dia	1 dia	-	+	-	-	+++	++	++	++	-
4126 (22303-04)	143	1430	10,0	10.2.77	Sem inflorescências ou sementes	Morreu	30min	30min	4h45min	-	5h15min	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++S

(a) s.s. Sem sintomas, + sintomas leves, ++ sintomas moderados, +++ sintomas acentuados, S = foi usada sonda para aliviar timpanismo.

lateral; com timpanismo moderado. Às 15.25 h o timpanismo era novamente acentuado, o animal gemia, e às 15.30 h estava morto. — *Achados de necropsia*: edema submandibular leve, edema sublingual leve, mucosa bucal e do esôfago com coloração cinzento-escura; parede do rúmen, no saco crânio-ventral, na parte cranial, na região ao redor do sulco esofágiano, contígua ao retículo e especialmente na parte divisória com o saco dorso-ventral, muito espessada, alcançando nesta última parte até 5 cm de espessura; nestas áreas o epitélio se desprendia facilmente pela raspagem, deixando ver que a própria tinha coloração vermelha (congestão); a parede do retículo estava espessada uniformemente por edema, com espessura de aprox. 1 cm; baço com aumento moderado; bexiga com pequena quantidade de urina de coloração marrom-acinzentada; endocárdio do ventrículo esquerdo com presença de algumas sufusões. — *Exames histopatológicos* (SAP 22301-02) revelam, na língua, edema acentuado da própria, que se estende para dentro da musculatura; no rúmen, edema muito acentuado da serosa e acentuado da própria e submucosa; no retículo, edema leve da serosa e acentuado da própria e submucosa, estendendo-se também, com intensidade regular, para dentro da musculatura; baço com congestão acentuada.

Bovino 4125, macho, mestiço holandês preto e branco, com 161 kg, recebeu em 8.6.77 (10.35 às 10.50 h), 800 g (= 5 g/kg) de folhas de *P. scandens*, recém-colhidas de planta em plena fase de floração e frutificação. Aproximadamente na metade da administração começou a salivar. Logo após o término da administração da planta comeu um pouco do capim dado. Às 11.50 h e 12.23 h eliminou urina de coloração vermelho-marrom. Às 12.53 h começou a ficar irrequieto, pisoteando sempre no mesmo lugar, irrequietação que foi aumentando, o animal batendo às vezes com a mão no chão e poucas vezes se deitando e levantando logo em seguida. Às 14.45 h o animal já estava novamente calmo. Às 15.30 h, T 39,2, P 72, R 20, rúmen sem movimentos de bracejo. Comeu pouco, e fezes normais. Às 20.40 h a urina continuava com coloração marrom-escura. Em 9.6.77, às 7.50 h, o animal estava espereto, tinha comido pouco capim e as fezes estavam um pouco ressequidas; T 38,2, P 80, R 12; rúmen com fracos movimentos de bracejo, 1/2 min. A urina tinha coloração normal. Às 14.40 h já o rúmen funcionava normalmente e o apetite era normal.

Bovino 4126, macho, mestiço holandês preto e branco, com 143 kg, recebeu em 10.2.77 (9.30 às 10.00 h), 1430 g (= 10 g/kg) de folhas de *P. scandens*, recém-colhidas de planta sem inflorescências ou sementes. Logo após o término da administração tinha anorexia. Às 10.10 h foi notada bastante espuma pela boca. Às 10.23 h percebia-se leve edema submandibular. Observou-se que mantinha a cauda levantada, eliminando gases e pequenas quantidades de fezes. Às 10.34 h eliminou urina de coloração marrom-avermelhada. A partir desta hora começou a ficar irrequieto, pisoteando no mesmo local, depois deitando-se e levantando-se com certa frequência. Quando deitado, esticava para a frente uma mão e o pescoço, apoiando o queixo no chão, ou ficava deitado mais de lado. Até às 13.00 h tinha deitado e levantado 12 vezes. Às 12.05 h o timpanismo era moderado. Às 13.00 h quando estava deitado, batia às vezes com as pernas no abdômen. O timpanismo então era de moderado a acentuado. Às 13.17 h o animal estava em pé; T 38,7, P 120, com sopro, R 40, rúmen sem movimentos. A respiração não era contínua, o animal gemia. Continuou a deitar-se e levantar-se. Às 14.35 h o timpanismo era acentuado. Foi introduzida a sonda esofágiana, duas vezes em 5 minutos, dando saída a gases com pressão forte. O animal parou de gemer; às 14.42 h os movimentos respiratórios diminuíram em frequência e se tornaram fracos; o animal foi-se deixando cair de lado e às 14.45 h estava morto. — *Achados de necropsia*: leves edemas submandibular e sublingual; mucosa da boca e do esôfago com coloração cinzento-escura; parede do esôfago com edema acentuado em toda a sua extensão; parede do rúmen, no saco crânio-ventral, na parte cranial, na região ao redor do sulco esofágiano, contígua ao retículo e especialmente na parte divisória com o saco dorso-ventral, muito espessada, alcançando nesta última parte até 6 cm de espessura; nestas áreas o epitélio se desprendia facilmente pela raspagem, deixando ver que a própria estava vermelha (com congestão); a parede do retículo estava espessada uniformemente por edema, com aprox. 1 cm de espessura; mucosa do

coagulador com cor rósea (leve congestão); mucosa do intestino delgado, em quase toda a extensão, congesta; mucosa do ceco congesta e com petéquias; intestino grosso, sem alterações; baço com aumento moderado de volume; bexiga com pequena quantidade de urina de coloração marrom-acinzentado. — *Exames histopatológicos* (SAP 22303-04) revelam, na língua, leve edema na própria; no esôfago, acentuado edema na própria e na submucosa; no rúmen, edema muito acentuado na serosa e acentuado na própria; no retículo, edema moderado, com separação do epitélio, e degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais do estrato espinoso nas partes mais superficiais; no intestino delgado, infiltrados linfo-plasmocitários moderados na mucosa; no baço e em linfonodo, congestão acentuada.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

As folhas de *Plumbago scandens* L. se revelaram tóxicas para bovinos em nossos experimentos. Enquanto a dose de 2,5 g/kg não causou o aparecimento de sintomas em dois (Bov. 2852, 3996) e só provocou sintomas leves num terceiro animal (Bov. 4119), quantidades entre 4,6 e 5 g/kg ocasionaram quadro de intoxicação, com sintomas leves (Bov. 2903, 4122), moderados (Bov. 4125) e acentuados (Bov. 3591), morrendo um dos cinco animais com esta dose (Bov. 4124). Na dose de 10 a 10,8 g/kg, quatro dos seis bovinos morreram (Bov. 3588, 3993, 4123, 4126). Quantidades acima de 15 g/kg causaram a morte dos dois bovinos que as ingeriram (Bov. 3562, 3581). Os primeiros sintomas apareceram na fase final da administração da planta ou logo após; nos animais que morreram surgiram entre 15 (Bov. 3993) e 60 minutos (Bov. 3581), e nos animais que se recuperaram, entre 15 (Bov. 2903) e 70 minutos (Bov. 3591) após o início da administração da planta. A evolução da intoxicação durou, em seis dos sete casos em que os animais morreram, de 4 horas 45 min. (Bov. 4123) a 20 horas (Bov. 3993); só no sétimo caso foi mais longa, isto é, de 6 dias (Bov. 3588); nos animais que se recuperaram, variou entre 6 horas (Bov. 4119) e 3 dias e meio (Bov. 3591). Nos casos de êxito letal os animais estavam mortos entre 5 horas 15 min. (Bov. 4126) e 6 dias (Bov. 3588), e nos casos em que os animais sobreviveram, eles estavam recuperados entre 7 horas (Bov. 4119) e 3 dias e meio (Bov. 3591), após o início da administração da planta. A introdução da sonda esofágiana com a saída de gases do rúmen, nos bovinos com timpanismo moderado ou acentuado, aparentemente não influenciou, ou pelo menos não muito, a evolução do quadro de intoxicação.

Os sintomas observados na intoxicação por *P. scandens* foram bastante uniformes em todos os casos, tanto nos bovinos que morreram como nos que se recuperaram, e consistiram em sialorréia leve a moderada, edema submandibular leve a acentuado, e coloração cinzento-escura da mucosa bucal, escurecimento da urina (coloração castanho-escura avermelhada), anorexia, parada dos movimentos do rúmen, inquetação (cólica) moderada a acentuada, timpanismo leve a acentuado; em dois casos foi observado balanço da cabeça (Bov. 3562 e 4123). (Quadro 1)

Os principais achados de necropsia foram alterações nos proventrículos; o rúmen, na sua parte crânio-ventral, e o retículo, apresentaram parede espessada por edema acentuado; no rúmen o epitélio podia ser retirado facilmente, deixando exposta a própria com (Bov. 3562, 3581, 4124 e 4126) ou sem

congestão (Bov. 3993 e 4123); em um animal havia necrose difteróide na parte ventral da mucosa do rúmen (Bov. 3588); além disto, a mucosa bucal e a do esôfago tinham tomado coloração preta.

As principais alterações histopatológicas consistiram em edema da parede dos proventrículos com desprendimento de seu epitélio.

Esse quadro permite concluir que a principal ação tóxica de *P. scandens* é devida às propriedades cáusticas da planta, o que está de acordo com as indicações de Corrêa (1926) e Braga (1960). A planta causa lesões na mucosa da parte anterior do tubo digestivo, sob forma de edema de sua parede, principalmente dos proventrículos, o que explica a sintomatologia demonstrada pelos bovinos, especialmente a inquietação (cólica) e o timpanismo. Além disto, a planta possui um pigmento que tinge de preto as partes superficiais do epitélio da mucosa da parte anterior do aparelho digestivo, bem como a urina. Nossos experimentos não permitem concluir se as folhas de *P. scandens* variam em sua toxidez se colhidas da planta com ou sem inflorescências e sementes.

Não conseguimos verificar se *Plumbago scandens* é ingerida pelos bovinos, sob condições naturais, e em quantidades suficientes, e, conseqüentemente, se é responsável pela ocorrência de casos de intoxicação que permitiriam incluir este arbusto entre as plantas tóxicas para o gado, sob o ponto de vista agropecuário.

Agradecimentos.- Agradecemos à Dra. Graziela Maciel Barroso, do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, pela identificação do material botânico e descrição de *Plumbago scandens*, e ao Dr. João Araújo de Almeida, Médico Veterinário formado pela Faculdade de Veterinária em Salvador, pelo fornecimento das mudas da planta.

REFERÊNCIAS

- Arnold H.L. 1944. Poisonous plants of Hawaii. Tongg Publ., Honolulu.
- Braga R. 1960. Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará, 2ª ed. Imprensa Oficial, Fortaleza, p. 323.
- Chopra R.N., Badhwar R.L. & Ghosh S. 1949. Poisonous plants of India. Vol. 1. Scient. Monogr. n.º 17, Ind. Counc. Agric. Res., Govt India Press, Calcutta.
- Corrêa M.P. 1926. Dicionário das plantas úteis do Brasil. Vol. 1. Min. Agric. Ind. Com., Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, p. 351-352.
- Hoehne F.C. 1939. Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais. Depto Botânica Est. São Paulo, Graphicars, S. Paulo.
- Völker R. 1950. Eugen Frölners Lehrbuch der Toxikologie für Tierärzte. 6. Aufl. Ferdinand Enke, Stuttgart.
- Watt J.M. & Breyer-Brandwijk M.G. 1962. The medicinal and poisonous plants of southern and eastern Africa. 2nd ed. E. and S. Livingstone, Edinburgh.
- Webb L.J. 1948. Guide to the medicinal and poisonous plants of Queensland. Bull. n.º 232, Counc. Scient. Ind. Res., Melbourne.

AVALIAÇÃO COMPARATIVA ENTRE DIFERENTES MÉTODOS DE ADMINISTRAÇÃO DE VACINA PREPARADA COM A ESTIRPE VACINAL LASOTA DO VÍRUS DA DOENÇA DE NEWCASTLE¹

A. C. PAULLILLO², A. A. PINTO³, J. ARKI⁴, A. BERCHIERI JR.⁵ E T. TOYOSHIMA⁶

ABSTRACT.- Paulillo A.C., Pinto A.A., Arki J., Berchieri Jr. A. & Toyoshima T. 1982. [Comparative evaluation of different administration methods of a vaccine prepared with the LaSota strain of Newcastle disease virus.] Avaliação comparativa entre diferentes métodos de administração de vacina preparada com a estirpe vacinal LaSota do vírus da doença de Newcastle. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 2(3):113-119. Fac. Ciênc. Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, São Paulo 14870.

A comparative study of different application methods of a vaccine prepared with the LaSota strain, in primary vaccination against Newcastle disease, was carried out in broiler-chicks from immune parental stock. Primary vaccination of seven day old birds was performed by aerosol, eye drop instillation and drinking water. The aerosol method induced the highest response of the hemagglutination inhibiting antibody, which was significant at the 5% level of probability when compared to the eyedrop and drinking water methods. When vaccinated birds were challenged, it was found that the aerosol method provided better protection than the drinking water method, significant at the 5% level of probability. However, no significant differences could be detected between the aerosol and the eyedrop methods. There was no correlation between the hemagglutination inhibiting antibody titers found and the protection to challenge.

INDEX TERMS: Newcastle disease, LaSota, hemagglutination-inhibition (HI) test, challenge, aerosol, eyedrop instillation, drinking water, broiler-chicks.

SINOPSE.- Um estudo comparativo entre diferentes métodos de administração de vacina preparada com a estirpe LaSota, em primovacinação contra a doença de Newcastle, foi realizado em pintos de corte, procedentes de matrizes imunizadas. Empregando-se primovacinação aos sete dias de idade das aves, pelas vias aerógenas, ocular e oral; o método aerosol induziu melhor resposta de anticorpos inibidores da hemaglutinação (HI), com significância ao nível de 5% de probabilidade, em relação aos métodos ocular e oral. No teste de proteção ao desafio, verificou-se a supremacia do método aerosol em relação ao oral, com significância ao nível de 5% de probabilidade, entretanto, sem diferenças significativas entre os métodos aerosol e ocular. Os títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação, em termos de valores médios não guardaram correspondência com os índices de proteção ao desafio.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Doença de Newcastle, LaSota, reação de inibição da hemaglutinação (HI), desafio, aerosol, ocular, oral, pintos de corte.

INTRODUÇÃO

O sucesso da vacinação contra a doença de Newcastle, mediante o emprego de vacinas vivas de caráter lentogênico depende, fundamentalmente, da qualidade imunogênica do vírus empregado na produção da vacina e da capacidade do hospedeiro considerado em oferecer uma resposta imunitária apreciável e duradoura frente a diferentes tipos de antígenos. A esse respeito o papel da imunidade tem sido destacado amplamente, ressaltando-se a possível influência das vias de administração de vacina na resposta imunológica das aves, o que tem sido alvo de inúmeras investigações como comprovam os trabalhos de Bënson et al. (1975), Stoenescu et al. (1977) e Partadiredja et al. (1979).

Vários são os critérios usados para avaliar as qualidades antigênicas e imunizantes de vacinas vivas, de caráter lentogênico, contra a enfermidade de Newcastle. Tem-se utilizado como critério o grau de proteção de aves vacinadas contra o desafio, o título de anticorpos inibidores da hemaglutinação (HI) medidos após a vacinação e ainda, entre outros, a resistência à doença clínica (Lancaster 1964).

Nesse aspecto, a reação de inibição da hemaglutinação é o procedimento mais econômico e rápido para a aferição de anticorpos contra a doença de Newcastle; embora determine resultados irregulares, que não podem ser comparados com a resistência das aves ao desafio, conforme Lancaster (1964) e Beard e Easterday (1967).

Em aves jovens, os efeitos adversos à sua produtividade motivados pela administração de estirpes lentogênicas contra a enfermidade de Newcastle, dependem proeminentemente, da via ou processo vacinal empregado, conforme Lancaster (1964). Com relação a esse aspecto, o aerosol tem sido o mais incrimi-

¹ Aceito para publicação em 29 de março de 1982.

Trabalho desenvolvido com auxílio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

² Departamento de Patologia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal (FCAVJ-UNESP) Jaboticabal, SP 14870.

³ Departamento de Microbiologia e Imunologia, Instituto de Ciências Biomédicas (ICB-USP).

⁴ Departamento de Produção Animal, FCAVJ-UNESP.

⁵ Departamento de Patologia Veterinária, FCAVJ-UNESP.

⁶ SOCIL PRÓPECUÁRIA, Cruzeiro, São Paulo 12700.

nado dentre os métodos de vacinação, sendo frequentemente associado às reações respiratórias graves e mortalidade variável, observadas após o seu emprego. Na sua utilização é de máxima importância, entre outras, as seguintes observações: tempo de nebulização, diâmetro da partícula nebulizada, concentração do vírus na vacina e o tipo de diluente utilizado, consoante informes de Gough e Allan (1973).

No entanto, a maior desvantagem deste método é o de provocar reações secundárias, consecutivas a sua aplicação, especialmente quando o diâmetro da partícula nebulizada é demasiadamente pequeno, facilitando sua penetração nos alvéolos pulmonares e sacos aéreos; ou quando se tem a presença de outros quadros respiratórios sub-clínicos, que se exacerbam pelo estímulo vacinal, conforme relatos de Duee e Dieers (1967), Gough e Allan (1974), Meulemans et al. (1975) e Villegas et al. (1976).

Diante da escassez da literatura nacional concernente à imunoprofilaxia da enfermidade de Newcastle e sendo portanto esta moléstia de extrema importância na avicultura brasileira, necessitando de melhores pesquisas com o intuito de tentar diminuir sua prevalência, delineou-se o presente trabalho, com os objetivos de avaliar a resposta imunológica à primovacinação pelos métodos: aerossol, ocular e oral, correlacionar os títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação com os valores de proteção ao desafio e compilar dados clínicos associados ao emprego do processo aerossol que possibilitem ou não a sua indicação em primovacinação.

MATERIAL E MÉTODOS

Instalações e equipamentos

O experimento foi conduzido no Aviário Experimental da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias campus de Jaboticabal, UNESP.

As aves em sua fase inicial (1-28 dias de idade) foram alojadas em um conjunto de baterias com aquecimento elétrico, permanecendo 30 aves por andar de bateria.

O alojamento das aves em sua fase final (28-56 dias de idade) deu-se em gaiolas de recria, permanecendo seis aves por unidade de gaiola.

Aves experimentais e manejo

Foram utilizados 360 pintos de corte de linhagem comercial, provenientes de matrizes imunizadas contra a doença de Newcastle e distribuídos ao acaso, em quatro tratamentos e três repetições com 30 aves por parcela. O manejo seguiu as operações de rotina empregadas em uma criação de frangos de corte.

Vacinas

Foi utilizada vacina comercial proveniente de um mesmo laboratório⁷ e que constava de uma única partida de 10 frascos, estando todos no início de sua validade. Essa vacina (liofilizada) foi preparada com a estirpe lentogênica LaSota do vírus da

doença de Newcastle. A determinação do título infectante em embrião (EID₅₀) da estirpe vacinal em estudo, foi obtido segundo o método de Reed e Muench (1938):

$$\text{EID}_{50} (\text{LaSota}) = 10^{7-0.2} / 0,1 \text{ ml}$$

Vacinação e amostragem

De acordo com a natureza do experimento, as aves experimentais foram separadas, aleatoriamente, em quatro grupos de 90 pintos (vacinados uma única vez no 7º dia de vida). O primeiro grupo recebeu a vacina por via aerógena, o segundo grupo por via ocular e o terceiro grupo por via oral; o quarto grupo (Testemunha) não recebeu vacina.

Como critério de avaliação da imunidade pós-vacinal, utilizaram-se os resultados dos títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação (HI), com posterior desafio com uma estirpe velogênica viscerotrópica do vírus da doença de Newcastle.

Vacinação via aerógena

Duas horas antes da imunização das aves pela via aerógena, estas, perfeitamente identificadas (por repetição) com plaquetas colocadas na região do tibiotarso, foram transportadas para o galpão experimental, ocupando homogeneamente uma área aproximadamente de 20 m². No método de aplicação da vacina pela via aerógena, as cortinas do galpão foram levantadas 20 minutos antes e abaixadas 30 minutos depois da nebulização. Utilizou-se solução glicerizada a 10% como diluente das vacinas, na proporção de 300 ml/1000 doses vacinais/100 pintos. O nebulizador⁸ foi mantido a 3,0 m de distância das aves e a 80 cm do piso do galpão. O diâmetro da gota nebulizada foi de aproximadamente 30 μ e o tempo de aplicação de aproximadamente 3 minutos.

Vacinação via ocular

As vacinas foram diluídas em água destilada na proporção de 30 ml/1000 doses vacinais/1000 pintos, correspondente a 0,03 ml de dose vacinal ocular.

Vacinação via oral

As vacinas foram diluídas na água de bebida (sem cloro), na proporção de 10 litros/1000 doses vacinais/1000 pintos. A administração das vacinas foi realizada em bebedouros de água corrente tipo "calha" de alumínio, tendo as aves permanecido em jejum hídrico três horas antes da vacinação.

Com o intuito de se obter as características ambientais adequadas, empregaram-se todos os métodos vacinais no período matinal. Após a aplicação de cada método vacinal, foi fornecido às aves complexo polivitamínico⁹ e antibióticos (tartarato de tilosina¹⁰ e cloranfenicol¹¹) ininterruptamente e durante três dias após a vacinação, segundo dosagem recomendada comercialmente.

⁸ Atomist Electric Sprayer, modelo 1021.
Root-Lowell Corporation, Lowell, Michigan, USA.

⁹ Vitagold

¹⁰ Tylan solúvel

¹¹ Quemicetina solúvel

⁷ Salsbury Laboratórios Ltda.

Observação clínica

Após administração da vacina pela via aerógena, os grupos de aves vacinados por este método, foram observados diariamente para o registro de sinais clínicos, durante 10 dias.

Colheita de sangue

Foram colhidas 432 amostras de sangue a partir do primeiro dia de idade das aves ($\pm 10\%$ das aves de cada grupo), com intervalos regulares de sete dias até o final do período experimental, sendo realizadas nove colheitas de sangue no total.

Os soros colhidos foram previamente inativados à 56°C por 30 minutos, para remoção dos inibidores inespecíficos da hemaglutinação de acordo com Phillips (1973) e colocados em frascos tipo penicilina, estéreis e armazenados em congelador a -20°C até o momento do uso.

Reação de inibição da hemaglutinação (HI)

Em todos os soros obtidos na fase experimental foi realizada a pesquisa de anticorpos inibidores da hemaglutinação (HI), com antígenos vivos contendo 4 UHA. Foi utilizada a microtécnica preconizada por Cunningham (1971).

Vírus de desafio

O desafio foi realizado com uma estirpe velogênica viscerotrópica de campo do vírus da doença de Newcastle. Trinta microlitros de vírus contendo $EID_{50} = 10^{7.52} / 0,1$ ml foram administrados a cada ave por via ocular de acordo com o estabelecido pelo "National Research Council" (1971).

Delineamento experimental

Foi do tipo inteiramente casualizado empregando-se um modelo de análise de variância descrito por Gomes (1966).

Para a análise estatística, os dados de percentagem de proteção ao desafio foram transformados para arco seno $\sqrt{\text{percentagem}}$.

RESULTADOS

As médias geométricas dos títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação (HI) dos soros das aves experimentais no período pré e pós-vacinal (expressas em logaritmo de base 2) nos diferentes grupos são apresentadas no Quadro 1.

Entretanto, com o declínio vertical e arbitrário dos anticorpos inibidores da hemaglutinação (HI), posteriormente aos 28 dias pós-vacinais (35º dia de idade das aves) visto no Quadro 1, estudos concernentes aos subseqüentes períodos pós-vacinais, não merecem menção distinta, deixando portanto de ser enfocados.

No Quadro 2, os resultados da análise estatística com referência aos títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação (HI), para as vias de aplicação com a estirpe vacinal LaSota, indicaram pelo teste de Tukey, diferenças significativas entre o aerosol e os métodos ocular e oral, ao nível de 5% de probabilidade, entretanto, sem diferenças significativas entre os métodos ocular e oral.

O resultado do desafio com o vírus velogênico viscerotrópico da doença de Newcastle no 35º dia de idade das aves, é apresentado no Quadro 3.

No Quadro 4, os efeitos estatísticos referentes às médias de percentagem de proteção ao desafio, demonstraram pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, haver diferenças significativas entre os métodos aerosol e oral; contudo, sem diferenças significativas entre os métodos aerosol e ocular e entre o ocular e o oral.

O Quadro 5 apresenta um estudo comparativo, entre os títulos médios de anticorpos inibidores da hemaglutinação (HI) dos soros das aves experimentais, obtidos na véspera do desafio (no 35º dia de vida das aves) e os valores de percentagem de proteção ao desafio nos diferentes grupos empregados.

A correlação entre a resposta sorológica e a resistência obtida neste experimento, foi imprecisa. Examinando com atenção

Quadro 1. Médias geométricas dos títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação (HI) dos soros das aves experimentais em período pré e pós-vacinal (expressas em logaritmo de base 2)

Idade das aves (dias)	Vacina LaSota ^(a)			
	Aerosol	Ocular	Oral	Testemunha
Período pré-vacinal				
1	6.32	6.12	6.00	5.90
6	5.70	5.64	5.32	5.00
Período pós-vacinal				
14	4.46	3.58	2.80	2.99
21	5.32	4.46	3.58	— ^(b)
28	6.32	5.32	4.32	—
35	6.12	5.24	4.32	—
42	5.49	4.80	3.80	—
49	5.00	4.32	3.58	—
56	3.90	3.32	2.58	—

(a) Estirpe vacinal LaSota administrada no sétimo dia de vida das aves pelas vias indicadas.

(b) Sem título.

o Quadro 5, observa-se que, níveis idênticos ou similares de anticorpos inibidores da hemaglutinação (HI) adquiridos depois da vacinação e na véspera do desafio, em alguns casos determinam 75% de proteção e em outros 100%.

No transcorrer do período pós-vacinal, entre o primeiro e o 10º dia (grupo 1), não foi observada nenhuma alteração clínica sugestiva de reações respiratórias pós-vacinais ou de infecção por *E. coli* ou *Mycoplasma sp.* Não houve registro de mortalidade.

Em suma, os coeficientes de variação dos testes realizados no presente experimento, utilizados como critério para avaliação dos objetivos inicialmente propostos, não foram muito altos, indicando uma boa precisão nos resultados obtidos.

DISCUSSÃO

O emprego de vacinas vivas com estirpes lentogênicas do vírus da doença de Newcastle, amplamente difundido na maioria dos países de avicultura desenvolvida, tem dado às vias de administração, maior importância, no que concerne, a sua influência sobre a eficiência da vacina.

No sistema individual de vacinação, o método ocular permite o contato direto do vírus vacinal com o epitélio respiratório e na concentração exata, proporcionando ainda, sua melhor distribuição no plantel.

A vacinação coletiva contra a doença de Newcastle se tornou necessária em países de avicultura desenvolvida, devido ao aumento crescente da população avícola, inicialmente, com adição do vírus vacinal na água de bebida, e posteriormente, com o emprego do processo aerosol.

A administração de vacina na água de bebida é um procedimento simples, rápido e econômico, no entanto, proporciona uma distribuição irregular do vírus vacinal conduzindo a resultados frequentemente variáveis.

Na administração de vacina pelo método aerosol, se verifica a penetração do vírus vacinal nas células do epitélio respiratório, o que facilita a sua multiplicação, produzindo uma intensa viremia e conseqüentemente um maior estímulo do sistema imunológico, segundo Gómez e Correa (1978).

A esse respeito, os resultados da análise estatística referentes aos dados de anticorpos inibidores da hemaglutinação, para as vias de aplicação com a estirpe vacinal LaSota (Quadro 2), demonstraram pelos contrastes, conduzidos através do método de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, a superioridade do método aerosol em relação aos métodos ocular e oral. Entretanto, sem diferenças significativas entre os dois últimos, apresentando-se o oral com a menor média. Esses achados demonstram que a melhor resposta sorológica (imunidade do tipo humoral), se deve a marcada penetração do vírus vacinal no trato respiratório, com o uso do método aerosol, em concordância com Beard e Easterday (1967). Tal conclusão pode ser verificada de forma concorde, nos trabalhos de Landgraf e Vielitz (1972), Bondarenko et al. (1973), Roepke (1973), podendo ser corroborada com os critérios estabelecidos em "Méthodes de vaccination" (1973) e ainda estando compatível com os estudos realizados por Stoenescu et al. (1977) e Partadiredja et al. (1979), que comprovaram a maior eficiência do processo aerosol em relação ao oral, concernente a produção de anticorpos inibidores da hemaglutinação.

Títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação, foram obtidos aos 21 dias após a vacinação (Quadro 1), independentemente dos métodos utilizados. Entretanto, a melhor média registrada 10g₂ 6.32 foi obtida, no 21º dia após a vacinação com o método aerosol, demonstrando efetivamente a influência da via de administração dos diferentes tipos de vacina na resposta imunológica.

No Quadro 4, os contrastes conduzidos pelo método de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, demonstraram a supremacia do método aerosol em relação ao oral, entretanto, sem apresentar diferenças significativas entre os métodos aerosol e ocular. O oral, foi o que se apresentou, com a menor média de porcentagem de proteção ao desafio, porém, não diferindo estatisticamente do ocular. Este por sua vez, se posicionou intermediariamente, entre os métodos vacinais, utilizados no presente experimento.

Neste aspecto, os resultados da presente pesquisa estão confirmados nos trabalhos de Pagnini et al. (1970), Bondarenko et al. (1973), Roepke (1973), Stoenescu et al. (1977), Parta-

Quadro 2. Médias geométricas dos títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação (HI), teste F e de Tukey para as vias de aplicação com a estirpe vacinal LaSota

Vias de aplicação	Períodos pós-vacinal (idade das aves-dias)			
	14	21	28	35
Aerosol	22,00 a ^(a)	40,00 a	80,00 a	69,33 a
Ocular	12,00 b	22,00 b	40,00 b	38,66 b
Oral	7,33 b	12,00 b	20,00 b	20,00 b
F	9,84 **	6,66 **	13,12 **	13,48 **
dms (5% Tukey)	9,01	20,73	31,81	25,58

(a) Médias na mesma coluna seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

** Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

AVALIAÇÃO ENTRE MÉTODOS DE ADMINISTRAÇÃO DE VACINA DA DOENÇA DE NEWCASTLE

Quadro 3. Resultado do desafio, com vírus velogênico viscerotrópico da doença de Newcastle, em aves tipo corte, no 35º dia de vida (4 grupos), primovacinaadas aos 7 dias de idade, com a estirpe vacinal LaSota

Grupos	Método de administração	N.º de aves testadas	% de aves testadas de cada grupo	Mortalidade			Mortalidade total	% de proteção			% total de proteção à morte
				R ₁	R ₂	R ₃		R ₁	R ₂	R ₃	
1	Aerosol	12	13,50	1/4	1/4	1/4	3/12	75	75	75	75,0
2	Ocular	12	13,50	1/4	1/4	2/4	4/12	75	75	50	66,6
3	Oral	12	13,50	2/4	2/4	2/4	6/12	50	50	50	50,0
4	(Testemunha)	12	13,50	4/4	4/4	4/4	12/12	0	0	0	0,0

R₁, R₂ e R₃ = Repetições.

diredja et al. (1979), e de acordo com os critérios estabelecidos em "Méthodes de vaccination" (1973), que preconizam a maior eficiência do método aerosol em relação ao oral, relativo aos níveis de proteção ao desafio, concordes parcialmente com os resultados inseridos nos trabalhos de Landgraf e Vielitz (1972) e de Gough e Alexander (1973), que evidenciaram a maior eficácia do método aerosol em comparação aos métodos ocular e oral, no que concerne à resistência ao desafio. Todavia, estão incompatíveis com as conclusões obtidas por Beard e Easterday (1967) e Eidson e Kleven (1976), que demonstraram que o método aerosol comparativamente ao ocular induziu superior proteção ao desafio, discordando ainda dos resultados obtidos por Benson et al. (1975) e Almassy et al. (1979), que em termos de proteção ao desafio, comprovaram que as vacinas, quando administradas pela via ocular, dão melhores resultados do que as aplicadas pela via oral.

O fato de não existir diferenças significativas entre os métodos aerosol e ocular, no que concerne aos índices de proteção ao desafio (Quadro 4), indica que ambos os métodos proporcionam uma penetração do vírus vacinal do trato respiratório das aves, favorecendo o tropismo do mesmo por este tecido, permitindo a formação de uma barreira local (tissular) e de anticorpos locais ao nível dos epitélios da árvore respiratória.

Com relação ao método de vacinação na água de bebida, por maior que seja a atenção dispensada à operação, este não se constitui em uma técnica confiável, em razão dos inúmeros fatores influentes sobre a dose vacinal, embora no teste de proteção ao desafio, não difira estatisticamente do ocular.

É importante observar que 100% das aves controles sucumbiram na prova de desafio. À necropsia, apresentaram lesões patognômicas da doença de Newcastle (forma velogênico-viscerotrópica), o que demonstra, que o vírus utilizado na prova de desafio foi adequado e confirma a validade dos resultados obtidos.

A correlação entre os títulos médios de anticorpos inibidores da hemaglutinação e os índices de proteção ao desafio, obtida neste experimento, foi imprecisa. Níveis idênticos de anticorpos inibidores da hemaglutinação, obtidos após a vacinação, determinaram diferentes graus de proteção (Quadro 5, grupo 1). Do mesmo modo, o mesmo fenômeno foi observado com

semelhantes níveis de anticorpos inibidores da hemaglutinação (Quadro 5, grupos 2 e 3). De acordo com Gómez et al. (1978), esses resultados demonstram que os títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação somente permitem evidenciar uma reação frente ao vírus da doença de Newcastle, mas não indicam o grau de resistência das aves, devendo ser considerados unicamente como um reflexo momentâneo de imunidade que possuem as aves. Tal afirmativa vem corroborar os resultados obtidos por Lancaster (1964), Beard & Easterday (1967) e Leterdu (1972); que de um modo geral não acharam correlação entre títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação e resistência ao desafio, parcialmente concorde com as conclusões de Partadiredja et al. (1979), que encontraram uma pobre correlação entre o nível de anticorpos inibidores da hemaglutinação e o grau de proteção ao desafio. Entretanto, não concorda com os achados de Owolodun e Ajiboye (1975), Villegas et al. (1977) e Montenegro et al. (1978), que observaram uma correspondência entre o nível de anticorpos inibidores da hemaglutinação e os valores de proteção ao desafio.

A não correspondência entre a resposta sorológica e a resistência obtida neste experimento se explica pelo fato que os anticorpos inibidores da hemaglutinação representam, unicamente, uma das respostas imunes estipuladas pelo vírus da doença

Quadro 4. Médias de porcentagem de proteção ao desafio, com vírus velogênico viscerotrópico da doença de Newcastle, em aves tipo corte, no 35º dia de vida, teste F e de Tukey para as vias de aplicação com a estirpe vacinal LaSota

Vias de aplicação	% de proteção
Aerosol	70,0 a ^(a)
Ocular	62,5 ab
Oral	47,5 b
F	6,30 *
dms (5% Tukey)	17,19

(a) Médias na mesma coluna seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Quadro 5. Comparação entre os títulos médios de anticorpos inibidores da hemaglutinação (HI) e os valores de porcentagem de proteção ao desafio, em aves tipo corte, vacinadas contra a doença de Newcastle, com a estirpe LaSota, pelos métodos aerosol, ocular e oral

Grupos	Método de Administração	Repetição	Títulos de HI ^(a) (MG) ^(b)	% de Proteção à Morte
1	Aerosol	R ₁	176	100
		R ₂	128	100
		R ₃	128	75
2	Ocular	R ₁	52	100
		R ₂	80	75
		R ₃	54	75
3	Oral	R ₁	46	75
		R ₂	48	50
		R ₃	22	50
4	Testemunha	R ₁	— ^(c)	0
		R ₂	—	0
		R ₃	—	0

(a) Véspera do desafio

(b) Média geométrica

(c) Sem título

de Newcastle. Outras reações biológicas, tais como imunidade celular, anticorpos locais presentes nos sistemas respiratório e digestivo e possivelmente, outros mecanismos defensivos menos esclarecidos devem merecer atenção especial, na avaliação da resistência ao desafio, consoante informes de Gómez et al. (1978).

A observação clínica, dos grupos de aves vacinados pelo sistema aerosol, não revelou qualquer reação de caráter respiratório, infecção por *E. coli* ou *Mycoplasma sp.*, bem como, índice de mortalidade. Neste aspecto, os dados do presente experimento, não concordam com os resultados obtidos por Gross (1961), Bankowski (1961), Duee e Dieers (1967), Schulze-Rehm (1973), Gough e Allan (1974), Hayter e Besch (1974), Meulemans et al. (1975) e Villegas et al. (1976). Esses autores, em geral, observaram problemas respiratórios pós-vacinais, pelo sistema aerosol, especialmente quando o diâmetro da gota nebulizada é demasiadamente pequeno, facilitando sua penetração nos alvéolos pulmonares e sacos aéreos, ou quando se tem, a presença de outros quadros respiratórios sub-clínicos, que se exacerbam pelo estímulo vacinal. Parece prudente a suposição que a ausência de "stress" respiratórios pós-vacinal pelo sistema aerosol tenha sofrido influência do diâmetro da gota nebulizada (aproximadamente 30 μ), não provocando assim reações respiratórias pós-vacinais associadas às condições controladas do experimento. É importante salientar ainda a aplicação de complexo polivitamínico e de antibióticos após o emprego do método aerosol, principalmente em pintos de

corte, o que afasta o aparecimento de sintomas respiratórios secundários após a primovacinação.

REFERÊNCIAS

- Almassy K., Barhouma N., El-Sabbagh A., Ibrahim S.N., Bektor N., Khashaba E. & Gawad S.A. 1979. Comparative immunization experiments with lentogenic Newcastle disease vaccine strains. *J. Egypt. Vet. Med. Ass.*, Cairo, 35(4):95-104.
- Bankowski R.A. 1961. Respiratory disease complex of chickens in the United States. *Brit. Vet. J.* 117:306-315.
- Beard C.W. & Easterday B.C. 1967. The influence of the route of administration of Newcastle disease virus on host response. *J. Infect. Dis.* 117:55-70.
- Benson H.N., Wenger D.R., Beard P.D. 1975. Efficacy of a commercial Newcastle vaccine against velogenic viscerotropic Newcastle disease virus. *Avian Dis.* 19(3):567-572.
- Bondarenko I.M., Burisev V.I., Chernyshev V.V., Lagutkin N. A. & Kushnir A.T. 1973. [Effectiveness of immunization against Newcastle disease (by inhalation, nasal and oral routes using LaSota and B₁ strains)]. *Vet.*, Moscow, 8:61-63.
- Cunningham C.H. 1971. *Virologia Practica*. 6^aed. Zaragoza, Acribia. 260p.
- Duee J.P. & Dieers R. 1967. Accident devaccination après utilisation de la souche Hitchner B₁ par nebulisation. *Rec. Med. Vet.* 143: 337-342.

- Eidson C.S. & Kleven S.A. 1976. A comparison of various routes of Newcastle disease vaccination at one day of age. *Poultry Sci.* 55: 1778-1787.
- Gomes F.P. 1966. Curso de estatística experimental. Esc. Sup. Agron. Luiz de Queiroz, Piracicaba, 384 p.
- Gómez M., Ramos P. & Bergqvist E. 1978. Respuesta inmunologica en pollos vacunados con virus de la enfermedad de Newcastle. *Arch. Med. Vet.* 10(1):48-55.
- Gómez M. & Correa J.M. 1978. Anticuerpos inhibidores de hemoaglutinación y resistencia al desafío despues de la aplicacion de vacuna Newcastle por aerosol. *Arch. Med. Vet.* 10(2):128-135.
- Gough R.E. & Alexander D.J. 1973. The speed of resistance to challenge induced in chickens vaccinated by different routes with a B₁ strain of live N.D.V. *Vet. Rec.* 92(21):563-564.
- Gough R.E. & Allan W.H. 1973. Aerosol vaccination against Newcastle disease: the influence of vaccine diluent. *Vet. Rec.* 93(17):458-461.
- Gough R.E. & Allan W.H. 1974. The potential as an aerosol vaccine of ulster 2C strain Newcastle disease virus. *Vet. Rec.* 95(12):263-265.
- Gross W.B. 1961. *Escherichia coli* as a complicating factor of Newcastle disease vaccination. *Avian Dis.* 5:431-439.
- Hayter R.B. & Besch E.L. 1974. Airborne particle deposition in the respiratory tract of chickens. *Poultry Sci.* 53:1507-1511.
- Lancaster J.E. 1964. Newcastle disease control by vaccination. *Vet. Bull.* 34(2):57-76.
- Landgraf H. & Vielitz E. 1972. [Experiments on the immunization of chicks against Newcastle disease.] Versuche zur Inmunisierung von Hühnerküken gegen atypische Geflügel pest (Newcastle-Krankheit). *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 79(20):493-500.
- Leterdu Y. 1972. Essai d'évaluation de l'immunité des volailles vis a vis de la maladie de Newcastle au moyen du test de l'inhibition de l'hémagglutination. Ses limites. *Bulletin d'Information. Estation Experimentale d'Aviculture, Loufragant*, 12(1).
- Méthodes de vaccination des volailles en France. 1973. *Bull. Off. Int. Epiz.*, Paris, 79(1-2):59-63.
- Meulemans G., Vindevogel H., Halen P., Widar J. 1975. Vaccination contre la maladie de Newcastle. Application de la technique d'aerosol a la vaccination de poussins d'un jour, porteurs d'anticorps homologues d'origine maternelle. *Ann. Med. Vet.*, Bruxelles, 119(3): 159-166.
- Montenegro S.A., Reis R. & Oliveira A.A. 1978. Vacinas lentogênicas (B₁ e LaSota) contra a doença de Newcastle, comercializadas no Brasil. 1. Avaliação da qualidade. *Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte*, 30(2):143-154.
- National Research Council 1971. Subcommittee on avian disease. Methods for examining poultry biologics and for identifying and quantifying avian pathogens. National Academy of Sciences, Washington D.C. 320p.
- Owolodun B.Y. & Ajiboye E.A. 1975. Newcastle disease vaccines: a study of duration of immunity and properties of LaSota vaccine given in drinking water. *Brit. Vet. J.* 13:580-585.
- Pagnini P., Martone F. & Compagnucci M. 1970. Ricerche sperimentali e pratiche sulla immunizzazione dei polli contro la Pseudo-Peste con vaccino attenuato monovalente (Pseudo-Peste) o bivalente (Pseudo-Peste-Bronchite Infettiva) per aerosol. *Acta Med. Vet.*, Napoli, 16:233-250.
- Partadiredja M., Eidson C.S. & Kleven S.H. 1979. A comparison of immune responses of broiler chickens to different methods of vaccination against Newcastle disease. *Avian Dis.* 23(3):623-633.
- Phillips J.M. 1973. Vaccination against Newcastle disease: an assessment of haemagglutination inhibition titres obtained from field samples. *Vet. Rec.* 93(22):577-583.
- Reed L.J. & Muench H. 1938. A simple method of estimating percent and points. *Am. J. Hyg.* 27(3):493-497.
- Roepke W.J. 1973. The control of Newcastle disease in the Netherlands. *Bull. Off. Int. Epiz.*, Paris, 79(1-2):43-50.
- Schulze-Rehm G. 1973. [Spray vaccination against Newcastle disease using the Hitchner B₁ and LaSota strains.] Untersuchungen zur Sprayvakzination gegen die atypische Geflügelpest unter Verwendung der Staemme Hitchner B₁ und LaSota. Inaugural Dissertation, Freie Universitaet Berlin. 71 p.
- Stoenescu V., Niculescu E., Popescu E. & Sandulescu S. 1977. Comparison of drinking water and aerosol methods of administration of LaSota Newcastle disease vaccine to broiler and layer chicks. *Lucrurile Inst. Cercetari Vet. Biopreparate "Pasteur", Bucharest*, 13:127-133.
- Villegas P., Kleven S.H. & Anderson D.P. 1976. Effect of route of Newcastle disease vaccination on the incidence of airsacculitis in chickens infected with *Mycoplasma synoviae*. *Avian Dis.* 20(2): 395-400.
- Villegas P., Anderson D.P., Kleven S.H. & Vezey S.A. 1977. Aerosol vaccination against Newcastle disease. III. Field experiments in broiler chickens. *Avian Dis.* 21(1):16-25.

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Palicourea grandiflora* (Rubiaceae) EM COELHOS¹

JÜRGEN DÖBEREINER² E CARLOS HUBINGER TOKARNIA³

ABSTRACT.- Döbereiner J. & Tokarnia C.H. 1982. [Experimental poisoning by *Palicourea grandiflora* (Rubiaceae) in rabbits.] Intoxicação experimental por *Palicourea grandiflora* (Rubiaceae) em coelhos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 2(3):121-124. Embrapa - Patologia Animal, Km 47, Seropédica, RJ 23460, Brazil.

The dried and powdered leaves of *Palicourea grandiflora* (H.B.K.) Standl. (fam. Rubiaceae), a plant toxic for cattle, were administered by stomach tube to eleven rabbits, to determine whether this animal could be used in future toxicological and diagnostic studies of the plant. Death occurred in the five rabbits which received 2 g of the dried plant material per kg of bodyweight, whereas only two of six died after receiving 1 g/kg. First symptoms appeared from 1h50min to 7h55min after the administration of the plant, lasted from 1 to 4 minutes, and were those of "sudden death". Post-mortem examination showed congestion in the liver in three of the seven rabbits. Histopathological findings, in most cases, were centro-lobular dissociation of the liver cords and slight hydropic vacuolar degeneration of hepatic cells. The powdered plant material kept at room temperature in tightly closed vials, protected from direct sunlight, had not lost its toxicity after five years of storage.

INDEX TERMS: Poisonous plants, experimental plant poisoning, *Palicourea grandiflora*, Rubiaceae, rabbits, pathology.

SINOPSE.- As folhas dessecadas e pulverizadas de *Palicourea grandiflora* (H.B.K.) Standl. (fam. Rubiaceae), planta tóxica para bovinos, foram administradas a 11 coelhos por via intragástrica, com a finalidade de verificar se o coelho pode ser usado como animal experimental de pequeno porte na continuação dos estudos sobre a ação tóxica da planta e no isolamento de seus princípios ativos, e ainda, como ajuda no diagnóstico desta intoxicação em bovinos, quando houver dúvidas no reconhecimento ou dificuldades na identificação de *P. grandiflora*, visto haver no Brasil rubiáceas com aspecto semelhante mas não tóxicas. Todos os cinco coelhos que receberam a planta dessecada na dose de 2 g/kg morreram, enquanto que dos seis que a receberam na dose de 1 g/kg, só dois morreram. O início dos sintomas nestes experimentos variou de 1h50min a 7h55min após a administração da planta, e a evolução da intoxicação de 1 a 4 minutos. A sintomatologia principal foi a de "morte súbita". À necropsia se constatou congestão hepática em três dos sete coelhos que morreram, e nos exames histopatológicos, na maioria dos casos, no fígado, dissociação centrolobular das trabéculas e leve degeneração hidrópico-vacuolar das células hepáticas. A planta pulverizada, conservada em vidros hermeticamente fechados, na sombra, à temperatura ambiente, não perdeu sua toxidez após o decurso de cinco anos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, intoxicação experimental por planta, *Palicourea grandiflora*, Rubiaceae, coelho, patologia.

INTRODUÇÃO

Em trabalho recente, foi demonstrada, através da experimentação em bovinos, a toxidez de *Palicourea grandiflora* H.B.K. Standl., da família Rubiaceae, planta tóxica responsável por "mortes súbitas" em bovinos no Território de Rondônia (Tokarnia et al. 1981). A dose letal para bovinos, das folhas frescas desta planta, foi de 1 a 2 g/kg.

O presente estudo foi realizado para verificar se o coelho pode ser usado como animal experimental de pequeno porte na continuação dos estudos sobre a ação tóxica da planta, bem como no isolamento de seus princípios tóxicos. Sendo sensível, o coelho serviria ainda como recurso auxiliar no diagnóstico desta intoxicação em bovinos e a ser usado quando houver dúvidas no reconhecimento ou falta de facilidades para a identificação de *P. grandiflora*, pois há rubiáceas com aspecto semelhante, mas não tóxicas; o resultado experimental positivo em coelho fortaleceria a suspeita de realmente tratar-se de *P. grandiflora*.

MATERIAL E MÉTODOS

As folhas de *Palicourea grandiflora*, coletadas entre 12 e 15 de maio de 1976, foram dessecadas inicialmente à sombra em temperatura ambiente e, em seguida, em estufa a 40-45°C durante dois a três dias, trituradas em moinho Wiley com malha

¹ Aceito para publicação em 14 de abril de 1982.

² Unidade de Pesquisa de Patologia Animal, EMBRAPA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23460.

³ Departamento de Nutrição Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23460; bolsista do CNPq (1111.5010/76).

Quadro 1. Experimentos em coelhos com as folhas dessecadas de *Palico*

Coelho		Planta administrada			Sintomas			
Nº (mat. reg. SAP)	Peso (g)	Data do experi- mento	Quantidade (g)	Dose (g/kg)	Início após começo da adminis- tração da planta	Evolução	Morte após adminis- tração da planta	Manifestações
299	3200	8.7.76	3,2	1	s.s. ^(a)	—	—	—
304 (22090)	2600	14.7.76	5,2	2	4h10 min.	1 min.	4h11 min.	Movimentos desequilibrados com a cabeça. Em seguida o animal deu alguns pulos, caiu de lado, gritou muito e morreu quase sem espertar
313	4000	17.11.76	4,0	1	s.s.	—	—	—
316	2500	20.10.76	2,5	1	s.s.	—	—	—
317 (22196)	2900	20.10.76	5,8	2	2h24 min.	3 min.	2h27 min.	Deitou de lado. Fracas contrações gerais. Respiração difícil, espaçada, dois gritos, tremores na parede abdominal, respiração espaçada (antes durante 24 minutos com aspecto sonolento, com focinho apoiado no chão)
318 (22211)	3000	20.10.76	3,0	1	4h26 min.	1 min.	4h27 min.	Debateu-se, logo caindo em decúbito lateral. Respiração difícil
319 (22231)	3300	24.11.76	6,6	2	?	?	6h25 min.	Só foi visto o final: deitado de lado, nos últimos momentos respiratórios, dando ainda dois gritos, morte
320 (22232)	3000	24.11.76	6,0	2	7h27 min.	2 min.	7h29 min.	Debateu-se violentamente na gaiola e finalmente caiu de lado. Deu dois gritos, fez uns 10 movimentos respiratórios forçados e morreu
322	3000	17.11.76	3,0	1	s.s.	—	—	—
662 (22918)	2600	7.1.82	5,2	2	1h50 min.	1 min.	1h51 min.	Caiu de lado e morreu calmamente
667 (22927)	2400	27.1.82	2,4	1	7h55 min.	1 min.	7h56 min.	Caiu de lado, colocou a cabeça em opistótono, fez alguns movimentos respiratórios forçados espaçados e morreu

(a) s.s. Sem sintomas.

(b) s.a. Sem alterações.

(c) +++ Alterações acentuadas, ++ moderadas, + leves.

gestão hepática, vista em três dos sete coelhos que morreram (Coelhos 318, 319 e 320).

Os exames histopatológicos revelaram principalmente alterações no fígado sob forma de dissociação centrolobular dos cordões hepáticos (Coelhos 317, 319, 320, 662 e 667) e vacuolização das células hepáticas, sob forma de vacúolos grandes na zona intermediária (Coelhos 304, 317, 318, 319, 320 e 667), sempre dando resultado negativo para gordura pelo Sudan III.

Como ajuda no diagnóstico da intoxicação por *P. grandiflora* em bovinos, isto é, quando houver dúvidas no reconhecimento ou falta de facilidades para a identificação da planta suspeita, recomendamos, para distinguir *P. grandiflora* de outras *Palicoureas* de aspecto semelhante mas não tóxicas, a administração, a coelho, de 2 g/kg da planta dessecada, pois nesta dose *P. grandiflora* causou a morte de todos os coelhos experimentais. Conhecemos somente três outras *Palicoureas* tóxicas, tanto para o bovino como para o coelho; são *Palicourea marcgravii* (Pacheco & Carneiro 1932, Döbereiner & Tokarnia 1959), *P. aeneofusca* (Tokarnia et al., dados não publicados) e *P. juruana* (Tokarnia & Döbereiner 1982), no campo facilmente diferenciáveis de *P. grandiflora*. Todas as três, ao contrário de *P. grandiflora*, exalam, quando trituradas em estado fresco, cheiro de salicilato de metila. *P. juruana* distingue-se

ainda por ter as folhas maduras na face dorsal (inferior) de cor roxa, e *P. aeneofusca* por ter as inflorescências integralmente amarelas; por sua vez, *P. grandiflora* tem as folhas muito maiores do que as três outras *Palicoureas* tóxicas.

REFERÊNCIAS

- Döbereiner J. & Tokarnia C.H. 1959. Intoxicação de bovinos pela "erva de rato" (*Palicourea marcgravii* St. Hil.) no Vale do Itapicuru, Maranhão, Arqs Inst. Biol. Animal, Rio de J., 2:83-91.
- Döbereiner J., Rezende A.M.L. & Tokarnia C.H. 1976. Intoxicação experimental por *Baccharis coridifolia* em coelhos. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet. 11:27-35.
- Pacheco G. & Carneiro V. 1932. Estudos experimentais sobre plantas tóxicas. I. Intoxicação dos animais pela "erva de rato da mata". Revta Soc. Paulista Med. Vet. 2(2-3):23-46.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1982. Intoxicação experimental por *Palicourea juruana* (Rubiaceae) em bovinos e coelhos. Pesq. Vet. Bras. 2(1):17-26.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Silva M.F. 1979. Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros. INPA, Manaus. 95 p.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Silva M.F. 1981. Intoxicação por *Palicourea grandiflora* (Rubiaceae) em bovinos no Território de Rondônia. Pesq. Vet. Bras. 1:85-94.

INFECÇÃO COM O VÍRUS DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA EM UM LOTE DE VACAS PRODUTORAS DE LEITE IMPORTADAS DO URUGUAI¹

CARLOS E. KANTEK-NAVARRO², ERNESTO R. KRUGER³ E VALDIR R. WELTE⁴

ABSTRACT.- Kanteck-Navarro C.E., Kruger E.R. & Welte V.R. 1981. [Enzootic bovine leukosis virus infection in cows imported from Uruguay]. Infecção com o vírus da leucose enzoótica bovina em um lote de vacas produtoras de leite importadas do Uruguai. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 2(3):125-126. Depto Med. Vet., Univ. Fed. Paraná, Cx. Postal 2959, Curitiba, PR 80000.

Sixty cows out of a total of 482 animals imported from Uruguay by Dairy Cooperative of Curitiba (CLAC) were sampled in order to verify the presence of antibodies against enzootic bovine leukosis (EBL) virus in their blood. All cows were about 30 months old and many of them were calving for the first time. Eleven (18.3%) cows had antibodies against EBL virus in their plasma which were detected using the immunodiffusion test.

INDEX TERMS: Bovine leukemia, enzootic bovine leukosis, virus, bovine.

SINOPSE.- Sessenta vacas de um total de 482 animais importados do Uruguai pela Cooperativa de Laticínios de Curitiba (CLAC) foram amostrados com a finalidade de se verificar a presença de anticorpos no sangue contra o vírus da leucose enzoótica bovina (LEB). Todas as vacas tinham aproximadamente 30 meses de idade e muitas delas se apresentavam parindo pela primeira vez. Onze (18,3%) vacas apresentaram anticorpos contra o vírus da LEB quando testados pela prova de imunodifusão.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Leucemia bovina, leucose enzoótica bovina, vírus, bovino.

INTRODUÇÃO

A leucose enzoótica bovina (LEB) é uma doença causada por um vírus RNA (Miller et al. 1969) que na sua forma clínica produz um tumor maligno do tecido linfático (Olson 1974). A doença atinge principalmente o gado leiteiro e têm demonstrado grande expansão no mundo inteiro, principalmente após a II Grande Guerra, época em que as migrações e importações de bovinos aumentaram consideravelmente (Olson & Baumgartner 1975). No Brasil, a presença do vírus têm sido investigada sorologicamente no Rio e em São Paulo (Romero & Rowe 1981, Alencar Filho et al. 1979). No Paraná foram recentemente observados vários casos clínicos em animais importados do Canadá (Diniz et al. 1980) e a importação de animais têm sido frequentemente incriminada como um dos fatores responsáveis pelo aumento dos casos clínicos recentemente observados. Com a finalidade de estabelecer em bases mais sólidas a participação da importação de bovinos na introdução da leucose bovina em nosso meio, os autores decidiram pesquisar a pre-

sença de anticorpos contra o vírus da LEB em um lote de vacas da raça holandês preto-e-branco provenientes do Uruguai.

MATERIAL E MÉTODOS

Quatrocentas e oitenta e duas vaquilonas e vacas de 1ª cria, de idade média de 30 meses de idade, foram importadas pela Cooperativa de Laticínios de Curitiba (CLAC) em Agosto de 1981. Os animais eram provenientes da região de Montevideo e antes de ingressar no Brasil foram mantidos em quarentena por 25 dias na cidade de Rivera, Uruguai. Todos os animais eram tuberculose e brucelose negativos e foram examinados para parasitas gastrointestinais e pulmonares por veterinários da CLAC. Após a quarentena os animais foram transportados via rodoviária até as dependências do Parque Castelo Branco em Curitiba, pertencente à Secretaria da Agricultura do Paraná onde ficaram em repouso por 30 dias para após esse período sofreram premunicação contra a piroplasmose bovina e serem depois distribuídos aos cooperados. No 20º dia após a sua chegada e portanto 10 dias antes de serem premunizados, 60 animais foram selecionados ao acaso e dos mesmos coletou-se sangue com a finalidade de pesquisar a presença de anticorpos contra o vírus da LEB.

Estabelecimento da amostra

Para estabelecimento da amostra, considerou-se 500, o número total de animais. Estabeleceu-se uma prevalência prévia de 50%, pelo fato da real prevalência local ser desconhecida, um intervalo de confiança de 90% ($P \leq 0.10$) e um erro de 20%, obtendo-se 64,24, através da seguinte fórmula:

$$n = \frac{p(1-p) Z^2}{\left(\frac{e.p}{100}\right)^2}, \text{ (Centro Panamericano de Zoonosis 1973).}$$

Ao valor encontrado se aplicou a fórmula de correção para amostragem em casos de populações finitas

$$n_c = \frac{n}{1 + \left(\frac{n-1}{N}\right)}, \text{ onde } n \text{ é o valor da amostra calculado sem correção, } N \text{ é o tamanho da população considerada } n_c \text{ o valor da amostra corrigido obtendo-se o}$$

¹ Aceito para publicação em 29 de abril de 1982.

² Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná, Cx. Postal 2959, Curitiba, Paraná 80000; bolsista do CNPq.

³ Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti, Rua Jaime Balão 575, Curitiba, Paraná 80000.

⁴ Secretaria da Agricultura do Paraná, Cx. Postal 464, Rua dos Funcionários 1559, Curitiba, Paraná 80000.

número final de elementos a serem amostrados ($n_c = 60$). Os animais amostrados não foram identificados a fim de evitar problemas futuros por ocasião da distribuição dos mesmos aos cooperados.

Antes da seleção, os animais que receberam qualquer medicação injetável desde a sua aquisição no Uruguai, foram separados do rebanho. Do rebanho, selecionou-se por sorteio a amostra.

Coleta de sangue. Os animais assim escolhidos foram punccionados na veia jugular externa com agulhas e seringas descartáveis, colhendo-se de cada um 10 ml de sangue em frascos contendo uma solução comercial de etilenodiaminotetracetato de sódio⁵ como anticoagulante. Após a coleta do sangue foi levado ao laboratório e centrifugado a 5.000 rpm durante 30 minutos sendo em seguida o plasma sobrenadante separado e armazenado em congelador a -24°C até o momento do uso.

Teste sorológico. O teste utilizado foi o de imunodifusão em agar gel (Miller & Van der Maaten 1977) com antígeno cedido aos autores pelo seu fabricante o laboratório americano Pittman-Moore⁶ através de seu representante no Brasil, a Johnson & Johnson.

RESULTADOS

Das 60 amostras testadas, 11 apresentaram resultados positivos com nítidas linhas de precipitação sendo formadas em todos os casos. Isto representou um índice de positividade de 18.3%. Todos os casos foram perfeitamente visíveis num período de tempo entre 36 e 48 horas após a sementeira.

DISCUSSÃO

A importação de animais deve ser levada em conta quando se estudam certas doenças de natureza infecciosa como é o caso da leucose bovina. O índice de positividade encontrado pelos autores pode ser considerado alto, se levarmos em consideração que a percentagem maior de animais sorologicamente positivos contra o vírus da LEB se situa na faixa acima dos 6 anos de idade (Mammerickx et al. 1977). Também deve ser conside-

rado que muitas das vacas importadas estavam prenhes e outras com bezerro ao pé. Igualmente deve ser levado em consideração que a maioria desses animais se destinavam a criadores de certo nível técnico, os quais frequentemente comercializam os produtos vivos das vacas importados, tornando-se assim disseminadores involuntários da infecção uma vez que ela se transmite vertical e horizontalmente (Piper et al. 1979). Os autores também chamam a atenção das autoridades sanitárias responsáveis pela concessão da autorização para importação de bovinos, para incluírem entre os certificados sanitários exigidos, o de negatividade contra a leucose bovina.

Agradecimentos. Ao Dr. Richard S. Pohl, da Johnson & Johnson do Brasil, Div. Veterinária e ao Dr. Joaquim Francisco dos Santos Filho, do Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti.

REFERÊNCIAS

- Alencar Filho R.A., Mazanti M.T., Saad A.D. & Pohl R. 1979. Levantamento preliminar da infecção pelo vírus da leucemia linfática crônica (LLC) dos bovinos no Estado de São Paulo. *Biológico*, S. Paulo, 45:47-54.
- Centro Panamericano de Zoonosis 1973. Procedimento para estudios de prevalencia de enfermedades cronicas en el ganado. *Nota Técnica n.º 18*, Ramos Mejia, Buenos Aires.
- Diniz J.M.F., Baroni J.M., Fenandes B.F. & Martinis D.M. 1980. Leucose bovina no Estado do Paraná. *Revta Setor Ciênc. Agrárias*, Curitiba, 2:33-38.
- Mammerickx M., Burny A., Dekegel D., Ghysdael J., Kettmann R. & Portetelle D. 1977. Comparative study of four diagnostic methods of enzootic bovine leukosis. *Zentralbl. Veterinaermed.*, B, 24:733-740.
- Miller J.M., Miller L.D., Olson C. & Gillette K.G. 1969. Virus-like particles in phytohemagglutinin-stimulated lymphocyte cultures with reference to bovine lymphosarcoma. *J. Natl Cancer Inst.* 43:1297-1305.
- Miller J.M. & Van der Maaten M.J. 1977. Use of glycoprotein antigen in the immunodiffusion test for bovine leukemia virus antibodies. *Europ. J. Cancer* 13:1369-1375.
- Olson C. 1974. Bovine lymphosarcoma (Leukemia). A synopsis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 165:630-632.
- Olson C. & Baumgartener L. 1975. Lymphosarcoma (Leukemia) of cattle. *Bovine Pract.* (Nov.), s.p.
- Piper C.E., Ferrer J.F., Abt D.A. & Marshak R.R. 1979. Postnatal and prenatal transmission of the bovine leukemia virus under natural conditions. *J. Natl Cancer Inst.* 62:165-168.
- Romero C.H. & Rowe C.A. 1981. Enzootic bovine leukosis virus in Brazil. *Trop. Anim. Hlth Prod.* 13:107-111.

⁵ Hemstab MR. Laboratório. Labtest S.A., Belo Horizonte, MG.

⁶ Leukoassay B. Antígeno glicoproteico do vírus da leucose bovina. Pittman-Moore Inc., Washington Crossing, New Jersey, USA.