

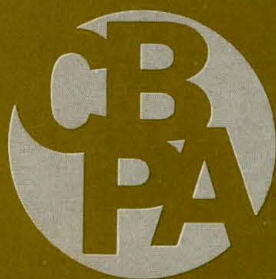
ISSN 0100-736X

Volume 2 Número 4

Out/Dez 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 de trabalhos de ciências veterinárias publicados, recentemente no Brasil. Os autores devem fazer com que seus trabalhos, quando a ela destinados, sejam datilografados de acordo com as instruções publicadas na própria revista.

Editorial Policy

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

Corpo Editorial (Editorial Board)

Editor: Jürgen Döbereiner. **Editores Assistentes:** Oswaldo Duarte Gonçalves, Cheryl Ann Rowe. **Editores Adjuntos:** Severo Sales de Barros, Osmane Hipólito, Jerome Langenegger, Hugo 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: Kleverton 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 – Finep e da Embrapa.

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

Outubro/Dezembro 1982

Número 4

SUMÁRIO

Determinação da persistência de penicilina no leite através de ensaio rádio-imunológico ("Charm Test"). <i>R. Weiblen & S.L. Spahr</i>	133
Flutuação populacional de <i>Cochliomyia hominivorax</i> no município de Itaguaí, Rio de Janeiro. <i>C.M.B. Oliveira, G.E. Moya & R.P. Mello</i>	139
Intoxicação de bovinos por <i>Vernonia rubricaulis</i> (Compositae) em Mato Grosso. <i>C.H. Tokarnia & J. Döbereiner</i>	143
Comportamento bioquímico e composição antigênica de culturas de <i>Salmonella gallinarum</i> e <i>S. pullorum</i> isoladas no Brasil. <i>C.H. Langenegger, J. Langenegger & L.M.G. Araújo</i>	149
Baixa resistência das células germinativas em touros com recorrência familiar. <i>J.F. Silva, J.C.F. Moraes, L.H. Schuch & S.C.R. Martins</i>	155
Resumos 138-169	161

CONTENTS

Detection of Penicillin in milk with the Radioimmunoassay technique (Charm Test). <i>R. Weiblen & S.L. Spahr</i>	133
Population fluctuation of <i>Cochliomyia hominivorax</i> in the county of Itaguaí, Rio de Janeiro. <i>C.M.B. Oliveira, G.E. Moya & R.P. Mello</i>	139
Poisoning of cattle by <i>Vernonia rubricaulis</i> (Compositae) in Mato Grosso. <i>C.H. Tokarnia & J. Döbereiner</i>	143
Biochemical behavior and antigenic composition of <i>Salmonella gallinarum</i> and <i>S. pullorum</i> cultures isolated in Brazil. <i>C.H. Langenegger, J. Langenegger & L.M.G. Araújo</i> ...	149
Low germ cell resistance, bulls family recurrence. <i>J.F. Silva, J.C.F. Moraes, L.H. Schuch & S.C.R. Martins</i>	155
Abstracts of current Brazilian veterinary science literature (in Portuguese)	161

ISSN 0100-736X

Pesq. Vet. Bras., Rio de Janeiro, v.2, n.4, p.133-168, out./dez. 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)

IV Ciclo Internacional de Clínica Veterinária Equina, São Paulo, 7-9.2.1983

(Secretaria: Divisão de Assistência Veterinária do Jockey Club de São Paulo, Rua Bento Frias 248, São Paulo, SP 05423, fone 211-4011, ramal 212)

9º 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)

VI Congresso Brasileiro de Clínica Veterinária de Pequenos Animais, São Paulo, 23-27.5.1983

(Informações: Av. Nazaré 1651, São Paulo, SP 04263, fones 63-2181 e 273-7587, e na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, Cidade Universitária, São Paulo, SP 05508, fone 211-6611, Radiologia)

35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, Belém, Pará, 6-13.7.1983

(Comissão Executiva Central da 35ª Reunião Anual, Secretaria Geral da SBPC, Caixa Postal 11008, São Paulo, SP 01000, fones 211-0495 e 212-0740)

9º Congresso Latino-Americano de Microbiologia,

12º Congresso Brasileiro de Microbiologia, São Paulo, SP, 25-29.7.1983

(Contatos: Prof. Sebastião Timonier, Instituto de Ciências Biomédicas da USP, Cidade Universitária, 05508 São Paulo, SP)

V Congresso Mundial de Produção Animal, Tóquio, Japão, 14-19.8.1983

(Contato: Dr. K. Kallay, Corso Trieste, 00198 Roma, Itália)

XX Conferência da Associação Mundial para o Progresso da Parasitologia Veterinária, Perth, Austrália, 18-20.8.1983

(Contato: Dr. J.D. Dunsmore, School of Veterinary Studies, Murdoch University, Murdoch, WA 6150, Austrália)

XXII Congresso Mundial de Veterinária, Perth, Austrália, 21-26.8.1983

(Secretaria: Dr. I.F. Fairnie, 28 Charles Street, South Perth, Western Australia 6151, Austrália)

**VI Jornada Latino-Americana de Buiatria,
II Congresso Brasileiro de Buiatria, Salvador, Bahia, 24-28.10.1983**

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

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

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

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

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

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

RESUMOS

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

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

DOENÇAS INFECCIOSAS

138. Farinha F.B., Giorgi W. & Leme M.M. 1982. **Infeções estafilocócicas em coelhos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*)**. [Staphylococcal infection in the domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*).] *Biológico, S. Paulo*, 48(1): 1-7. Inst. Biológico, Av. Cons. Rodrigues Alves 1252, Cx. Postal 4185, São Paulo, SP 04014.

Descrevem-se a incidência de infecções estafilocócicas em coelhos domésticos (*O. cuniculus*), as quais são mais comuns em animais jovens, causando abscessos subcutâneos ou septicemias, com comprometimento de órgãos internos, notadamente pulmões, rins e coração. São feitas descrições de casos de doença, com complementação de exames bacteriológicos e histopatológicos. São também discutidos e avaliados o tratamento, vacinação e medidas profiláticas.

139. Carneiro M.G. & Oliveira P. 1981. **Meios auxiliares de diagnóstico da Calcinose de Bombyx mori Linnaeus, 1758**. [Auxiliary means for the diagnosis of Calcinosis of Bombyx mori Linnaeus, 1758.] *Revta Bras. Med. Vet.* 4(2): 15-19. Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Km 47, RJ 23460.

Foram estudados aspectos da Calcinose Branca em criações comerciais de *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758), do município de Gália, Estado de São Paulo, Brasil. Os surtos principais da doença ocorreram no verão, principalmente nos meses de dezembro e janeiro, contribuindo para maior propagação as temperaturas acima de 24°C e a umidade relativa do ar acima de 70%; a morte ocorreu entre 6 e 10 dias após a instalação da moléstia. Foram usadas 100 larvas de híbridos comerciais, na 5ª idade de desenvolvimento, para provas microbiológicas, exames clínicos e exames histopatológicos. Como agente etiológico foi identificado o fungo *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin e os efeitos da agressão foram avaliados pela sintomatologia, pela observação das carcaças e pelo estudo de preparações microscópicas. Como contribuições diagnósticas, foram focalizadas a redução da densidade corporal das larvas mortas pela doença e a presença de esporos e micélios típicos no sedimento das soluções em que eram fixadas as peças colhidas.

140. Costa E.O., Visitin L.C., Schmidt A.M., Botelho Neto C.A.A. & Fava Netto C. 1981. **Esporotricose-infecção em eqüinos. I. Utilização do teste de hipersensibilidade do tipo tardio**. [Sporotrichosis in the horse. I. Utilization of the delayed hypersensitivity test.] *Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP, S. Paulo*, 18(1): 23-28. Fac. Med. Vet. Zootec., Univ.

S. Paulo, Cidade Universitária, Cx. Postal 8191, São Paulo, SP 05508.

Foi verificada a ocorrência da esporotricose-infecção em animais da espécie eqüina, através do teste de hipersensibilidade do tipo tardio "in vivo", utilizando-se como antígeno a esporotriquina suspensão de células leveduriformes. O trabalho foi realizado em eqüinos de quatro diferentes regiões do Estado de São Paulo, Brasil, obtendo-se uma alta positividade: 18,4%.

141. Panetta J.C. & Riccetti R.V. 1981. **Avaliação microbiológica de leites beneficiados, distribuídos ao consumo na cidade de São Paulo, durante o verão**. [Microbiological evaluation of processed milk distributed for consumption during the summer in the city of São Paulo.] *Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP, S. Paulo*, 18(1): 69-78. Fac. Med. Vet. Zootec., Univ. S. Paulo, Cidade Universitária, Cx. Postal 8191, São Paulo, SP 05508.

Procurou-se quantificar os germes pertencentes aos grupos microbianos de maior significado como tradutores da qualidade higiênico-sanitária de alguns tipos de leite distribuídos ao consumo na cidade de São Paulo, durante o verão de 1977. Assim, os leites tipos "B", "C" e "reconstituído magro" foram analisados segundo o seu conteúdo em mesófilos, termófilos e psicrófilos aeróbios; enterococos; coliformes; fungos e leveduras e *Pseudomonas*. Foram contrastadas cinco marcas de cada tipo, concluindo-se pela: a) flagrante variação das propriedades microbiológicas; b) discordância do padrão regulamentar; c) benevolência da legislação no que tange à relação mesófilos/psicrófilos; d) indicação de fungos e leveduras como qualificadores higiênicos dos leites pasteurizados; e) eficácia dos enterococos como indicadores de poluição fecal para os leites beneficiados, mormente quando estes são submetidos à armazenagem; f) adoção do exame quantitativo de coliformes totais em substituição ao exame de presença.

142. Samara S.I., Pinto A.A., Montassier H.J. & Crocci A.J. 1981. **Pesquisa de anticorpos anti antígeno VIA ("Virus-infection associated") do vírus da febre aftosa em búfalos (*Bubalus bubalis*, Linnaeus, 1758), ovinos e caprinos de alguns municípios do Estado de São Paulo, Brasil**. [Search for antibody to virus-infection-associated (VIA) antigen in buffaloes (*Bubalus bubalis*), sheep and goats from some cities in the State of São Paulo, Brazil.] *Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP, S. Paulo*, 18(2): 131-137. Fac. Ciênc. Agrárias e Veterinárias, Univ. Estado de São Paulo, Jaboticabal, SP 14870.

Foi realizado um estudo sorológico em 157 amostras de soros de búfalos indianos (*Bubalus bubalis*), em 370 soros de ovinos e em 180 soros de caprinos de algumas propriedades do Estado de São Paulo, Brasil. Os resultados encontrados revelam que 52% dos búfalos, 5,4% dos ovinos e 11% dos caprinos continham anticorpos anti antígeno VIA do vírus da febre aftosa. Esse estudo foi realizado em animais cujo histórico de vacinação e de exposição ao vírus da febre aftosa era conhecido.

143. Germano P.M.L., Ishizuka M.M., Nilsson M.R. & Miguel O. 1981. Estudo comparativo entre as provas de soro-neutralização e imunofluorescência indireta para a avaliação de anticorpos anti-rábicos em soros de cães. [Comparative study between serum neutralization and indirect immunofluorescent tests in the evaluation of rabies antibodies in the sera of dogs.] *Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP, S. Paulo, 18(2): 139-145.* Fac. Med. Vet. Zootec., Univ. S. Paulo, Cidade Universitária, Cx. Postal 8191, São Paulo, SP 05508.

Procedeu-se ao estudo comparativo entre as provas de soro-neutralização (SN) e imunofluorescência indireta (IFI) para a avaliação de anticorpos anti-rábicos em soros de cães. A prova de IFI apresentou associação significativa de alta intensidade e elevada concordância com a prova de SN, não se verificando, porém, correlação significativa entre os resultados obtidos por ambas as provas.

144. Rozas C.E., Côrtes J.A., Vasconcellos S.A. & Ito F.H. 1981. Emprego da glicerina como elemento auxiliar na conservação do vírus da febre aftosa. [Use of glycerina as an auxiliary element for the storage of foot and mouth disease virus.] *Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP, S. Paulo, 18(2): 147-151.* Fac. Med. Vet. Zootec., Univ. S. Paulo, Cidade Universitária, Cx. Postal 8191, São Paulo, SP 05508.

Duas porções de uma mesma suspensão de vírus, tipo "C" Waldmann, Subtipo 'C3' Indaial, da febre aftosa foram adicionadas a igual volume, respectivamente de glicerina e de diluente comum (Salina de Earle adicionada de 2.000 UI de penicilina G potássica e 2,0 miligramas de sulfato de estreptomicina por mililitro), e estocada a - 20°C. Os resultados obtidos nas provas de Titulação sucessivas realizadas, em camundongos lactentes, imediatamente após e aos 117, 150, 185 e 213 dias de sua preparação revelam uma maior estabilidade da suspensão adicionada de glicerina.

DOENÇAS PARASITÁRIAS

145. Costa A.J., Pacola L.J., Arantes I.G., Dohara J. & Justo C.L. 1980. Desenvolvimento das helmintoses gastrintestinais em búfalos (*Bubalus bubalis* L.) nascidos em Sertãozinho (SP). [Development of gastrointestinal helminths in buffaloes (*Bubalus bubalis* L.) born in Sertãozinho, São Paulo, Brazil.] *Bolm Industr. Animal, Nova Odessa, 37(2): 195-205.* Depto Patologia, Fac. Ciênc. Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, SP 14870.

Dez búfalos, três machos e sete fêmeas, nascidos em Sertãozinho (SP), foram acompanhados através de contagens de

ovos de nematóides por grama de fezes (OPG) e por cultura de larvas, mensalmente, dos 2,5 aos 14,5 meses de idade. Pelos resultados obtidos, verificou-se que as contagens de OPG total foram elevadas aos 2,5 meses de idade, em virtude da quantidade de ovos de *Toxocara vitulorum* (3.040 OPG). Nos meses seguintes, essas contagens decaíram e, a partir dos 5,5 meses até o final do período experimental (junho de 1979), mantiveram-se em níveis relativamente baixos e constantes. Nas coproculturas predominaram larvas de *Cooperia* até os 12,5 meses e de *Oesophagostomum* dos 13,5 aos 14,5 meses de idade. Semelhante às contagens OPG médias globais, ocorreu um declínio do número de larvas de *Cooperia* e de *Haemoncus* após os primeiros exames. Embora em intensidade bastante inferior à dos exames iniciais (junho de 1978) as contagens de OPG mostraram um aumento, nos bubalinos, aos 11,5 e 12,5 meses de idade, coincidindo com o maior número de larvas de *Oesophagostomum* nas coproculturas. Larvas de *Bunostomum* e aquelas semelhantes à *Trichostrongylus* estiveram presentes em índices baixos. Ovos de *Strongyloides papillosus* e de *Toxocara vitulorum*, que ocorreram em quantidades relativamente elevadas nos primeiros exames (2,5 meses), decaíram em número nos subseqüentes e não mais puderam ser detectados após os 5,5 meses de idade dos bubalinos. Das necropsias efetuadas em dois bubalinos aos 14,5 meses de idade, ou seja, ao final do experimento, foram identificadas as seguintes espécies de nematóides com as respectivas freqüências, números médios de espécimes e relações macho x fêmea: *Skrjabinagia* sp. (100%; 341; 1:2,5); *Haemoncus similis* 50%; 78; 1:1,2); *Paracooperia nodulosa* (50%; 28; 1:1,6); *Haemoncus contortus* (100%; 27; 1:1,5); *Oesophagostomum radiatum* (100%; 16; 1:2,3); *Cooperia curticei* (50%; 4; 1:2,5); *Bunostomum phlebotomum* (50% 0,5; 1 fêmea) e *Setaria* sp. (50%; 0,5; 1 fêmea). As principais estruturas morfológicas de *Paracooperia nodulosa* foram apresentadas e mensuradas.

146. Magalhães F.E.P. & Lesskiu C. 1982. Efeito do controle do berne sobre o ganho de peso e qualidade dos couros em novilhos de corte. [Effect of warble fly larvae control on weight gain and hide quality in cattle for beef production.] *Pesq. Agropec. Bras. 17(2): 329-336.* LANARA, Cx. Postal 50, Pedro Leopoldo, MG 33600.

Com o objetivo de avaliar o efeito do controle do berne *Dermatobia hominis* sobre o ganho de peso e a qualidade dos couros, foi realizado um experimento, através do emprego de bernicidas, em 39 novilhos de corte distribuídos em três lotes de treze animais, até a idade de abate, a saber, por um período de dois anos e meio. Dois dos lotes foram tratados com o larvícida fosfonato de 0,0 dimetil, oxi-2,2,2-tricloroetilo. O lote nº 1 recebeu o tratamento de quatro em quatro semanas, o lote nº 2 de oito em oito e o lote nº 3 ficou sem tratamento. Os resultados mostraram que a infestação larval foi significativamente mais reduzida nos lotes tratados em relação ao lote não tratado (testemunha). Não houve diferença significativa entre os lotes quanto ao ganho de peso. Também não houve diferença significativa quanto à qualidade dos couros nos dois lotes tratados; no testemunha, porém, a qualidade

foi inferior. É apresentada uma análise do custo-benefício do tratamento.

147. Brito D.B., Francis M., Freire N.M.S. & Gomes D.C. 1981. **Primeira citação de *G. urosulatus*, *O. quadrispinulatus* e *A. strongylina* parasitando suínos no Rio de Janeiro.** [The first report of *G. urosulatus*, *O. quadrispinulatus* and *A. strongylina* parasitizing pigs in Rio de Janeiro.] *Revta Bras. Med. Vet.* 4(2): 9-10. Fac. Veterinária, Univ. Fed. Fluminense, Rua Vital Brasil Filho 64, Niterói, RJ 24230.

No período de março a novembro de 1977 foram necropsiados 60 suínos nascidos e criados no Estado do Rio de Janeiro, provenientes de todas as regiões fisiográficas, para estudo da helmintofauna. Pela primeira vez no Estado foi constatada a ocorrência de *Globocephalus urosulatus* (Alessandrini, 1909) Cameron, 1924, *Oesophagostomum quadrispinulatus* (Marcone, 1901) Alicata, 1935 e *Ascarops strongylina* (Rudolphi, 1919) Alicata & McIntish, 1923.

148. Lopes C.W.G. & Flausino W. 1981. **Hammondia heydorni (Apicomplexa: Sarcocystidae) infection in dogs in Brazil.** [Infecção de cães por *Hammondia heydorni* (Apicomplexa: Sarcocystidae) no Brasil.] *Revta Bras. Med. Vet.* 4(2): 31-32. Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23460

A transmissão de *Hammondia heydorni* é descrita em condições experimentais. Os oocistos de *H. heydorni*, obtidos das fezes de um cão que se alimentou de carne bovina, foram inoculados experimentalmente em um dos cães. Após 180 dias, tecidos deste animal foram dados a 3 cães. Um cão, que recebeu músculo canino, eliminou oocistos nas fezes 9 dias após a sua infecção. Entretanto, o cão que se alimentou de vísceras, e outro que se alimentou de seções gastrintestinais, não eliminaram nenhum oocisto. Os oocistos mediram 13,33-0,16 por 12,19-0,66 micra de diâmetro. Nenhum sinal clínico foi observado no cão que recebeu oocistos de *H. heydorni* como também no que eliminou oocistos nas fezes. Estes resultados indicaram a presença de *H. heydorni* no Brasil e sua infecção para o cão de material procedente de bovino.

149. Massard C.L. & Massard C.A. 1981. **Aspectos biológicos do *Plasmodium (Novyella) juxtanucleare* Versiani e Gomes, 1941 em aves no Brasil (Haemosporidia: Plasmodiidae).** [Biological aspects of *Plasmodium (Novyella) juxtanucleare* Versiani & Gomes, 1941. (Haemosporidia: Plasmodiidae) in birds of Brazil.] *Revta Bras. Med. Vet.* 4(3): 3-4, 7-24. Depto Biologia Animal, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23460.

O exame microscópico do sangue de 292 aves criadas ou mantidas em 24 propriedades dos Estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo e Minas Gerais revelou a infecção por *P. juxtanucleare* em 60 de 151 galinhas (39,7%) e em 8 de 10 faisões (80%); nenhum caso positivo natural foi encontrado entre os patos, marrecos, gansos, perus, pombos, codornas e 16 espécies de aves silvestres estudadas. Inoculações de sangue de galo, com elevada parasitemia, em aves jovens,

resultaram positivas em todos os pintos inoculados, mas negativas em galinhas d'angola, perus e patos, que se revelaram não susceptíveis. Este agente etiológico da malária aviária foi detectado em aves dos municípios do Rio de Janeiro, Barra Mansa, Valença, Nova Iguaçu, Rio Bonito, Campos (RJ), Alegre (ES) e Lambari (MG).

150. Serra-Freire N.M. 1981. **Oiapoque — outro foco de *Trypanosoma vivax* no Brasil.** [Oiapoque — another focus of *Trypanosoma vivax* in Brazil.] *Revta Bras. Med. Vet.* 4(4): 30-31. Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23460.

Em julho e agosto de 1981 foram examinados esfregaços de sangue de 32 búfalos adultos, durante um surto de mortalidade na Fazenda Uaçá, Município de Oiapoque, Território Federal do Amapá. Cada animal foi examinado uma só vez através de esfregaço fino de sangue; por este método foi observado um índice de 25% de búfalos infectados com *Trypanosoma (Duttonella) vivax* Ziemann, 1905. Como havia relatos de casos de morte entre os animais, foi considerada patogênica a linhagem do flagelado encontrado.

151. Oba M.S.P., Dell'Porto A. & Fujii T.U. 1981. **Ocorrência de paracooperia nodulosa (Schwartz, 1929) em *Bubalus bubalis* (Lichtenstein, 1814) do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo.** [Occurrence of paracooperia nodulosa (Schwartz, 1929) in *Bubalus bubalis* (Lichtenstein, 1814) in the Ribeira Valley, State of São Paulo, Brazil.] *Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP, S. Paulo*, 18(2): 97-103. Inst. Ciênc. Biomédicas, Fac. Med. Vet. Zootec., Univ. S. Paulo, Cidade Universitária, Cx. Postal 8191, São Paulo, SP 05508.

Sintetizou-se o histórico da introdução do búfalo no Brasil e registrou-se o encontro de *Paracooperia nodulosa* em bubalinos do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, descrevendo as lesões macroscópicas encontradas no intestino delgado bem como a morfologia de machos e fêmeas adultos do parasita.

152. Ishizuka M.M. & Yasuda P.H. 1981. **Incidência de infecção por *Toxoplasma gondii* em cães do município de São Paulo.** [Incidence of toxoplasmosis in dogs from the city of São Paulo, Brazil.] *Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP, S. Paulo*, 18(2): 161-165. Fac. Med. Vet. Zootec., Univ. S. Paulo, Cidade Universitária, Cx. Postal 8191, São Paulo, SP 05508.

A incidência de infecção toxoplásmica em cães do município de São Paulo, avaliada pela prova de imunofluorescência indireta revelou ser igual a 63,8% [LC (58,6 — 69,0) = 95%]. Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre as porcentagens de reagentes quando considerados os sexos, as diferentes estações do ano, bem como as diversas regionais administrativas de São Paulo. O valor mais frequente do título de anticorpo anti-toxoplasma foi igual a 64.

PATOLOGIA, CLÍNICA E CIRURGIA

153. Mendes M.O., Conrad J.H. & Ammerman C.B. 1981. **Teores de minerais em bovinos de corte do Estado de Mato Grosso.** [Levels of minerals in beef cattle in the State of Mato Grosso.] *Revta Bras. Med. Vet.* 4(2): 25-30. Inst. Zootecnia, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23460.

A fim de investigar o teor de minerais em bovinos do Estado do Mato Grosso, 420 amostras de fígado foram obtidas, por biópsia, em seis fazendas, durante as duas estações do ano, de animais grupados em cinco classes de acordo com a idade e estado fisiológico, com sete animais cada classe. Foram determinados, nestas amostras, os teores de ferro, cobre, zinco, manganês, cobalto e molibdênio. Certos minerais foram analisados nas misturas minerais em uso nas seis fazendas. Os níveis de todos os minerais no fígado mostraram-se mais baixos ($P < 0,01$) na estação das chuvas do que na estação da seca. Exceto para o cobre ($P < 0,02$) e para o cobalto ($P < 0,08$), as diferenças entre as fazendas devido à estação do ano, para todas as concentrações de minerais no fígado, foram significativas ao nível de 1%. Em ambas as estações, os níveis médios de ferro (> 180 ppm), cobre (> 50 ppm) e cobalto ($> 0,08$ ppm) nas seis fazendas foram satisfatórios. Os níveis de zinco, na estação das chuvas, se mostraram próximos dos níveis de deficiência em uma fazenda e deficientes (< 84 ppm) nas outras. Os valores de manganês, na estação das chuvas, foram deficientes (< 8 ppm) em todas as fazendas e na estação da seca se mostraram deficientes em três fazendas. Os níveis de molibdênio foram baixos (< 2 ppm) somente em uma fazenda, em ambas as estações. As misturas minerais, nas seis fazendas, supriram os minerais mais críticos a nível muito mais baixos que os requeridos pelos animais, exceto o cobalto, o qual foi suprido de 100 a 740% do requerido. Concluiu-se que, durante as chuvas, quando há níveis adequados de energia e proteína nas forrageiras para um rápido crescimento dos animais, as necessidades de minerais são maiores e as reservas de minerais no fígado são geralmente reduzidas. Os níveis normais dos minerais encontrados foram adequadamente supridos ao gado pela forragem e pela mistura mineral suplementar.

154. Nazário W., Alencar Filho R.A. & Chiba S. 1981. **Influência dos minerais sobre as defesas orgânicas de bovinos em premunicação.** [The influence of minerals on the organic defences of cattle at premunition.] *Revta Bras. Med. Vet.* 4(4): 2-5, 9-11. Inst. Biológico, Av. Cons. Rodrigues Alves 1252, Cx. Postal 4185, São Paulo, SP 04014.

Trabalhando com lotes de bovinos importados e submetidos ao processo clássico da premunicação contra as plasmoses, compararam-se os resultados obtidos com o uso de suplementação mineral, adequadamente equilibrada, com o fito de procurar contrabalançar a espoliação sangüínea e estimular a hematopoiese. Foram utilizados lotes de dez animais, das raças Holandesa P.B. e Schwyz, procedentes do Canadá.

Após fase preparatória de aclimação e imunização contra outras doenças, os lotes foram submetidos a tratamento com formulação mineral especialmente elaborada. Foram mantidos lotes testemunhas, sem suplementação mineral especial. O acompanhamento térmico dos animais foi efetuado com gráficos individuais de temperatura, e a taxa de hemoglobina avaliada semanalmente. Conclui-se que, nos lotes submetidos à suplementação mineral adequada, foi possível manter o nível de hemoglobina pouco abaixo dos padrões normais quando comparado ao dos lotes testemunhas que apresentaram nível hemoglobínico significativo inferior. Clinicamente, os animais tratados mostraram-se em condições de maior resistência ao processo de premunicação, com rápida recuperação e sem recaídas.

155. Lessi E., Vianna J.R., Lima J.N.F., Rodrigues P.C. & Taveira A.C.M. 1981. **Contribuição ao estudo da toxidez ocasional da *Brachiaria* sp. (Tanner grass) em bovinos.** [Contribution to the study of occasional poisoning of cattle by *Brachiaria* sp. (Tanner grass).] *Revta Bras. Med. Vet.* 4(4): 32, 35-37. Fac. Farmácia, Univ. Fed. Fluminense, Rua Vital Brasil Filho 64, Niterói, RJ 24230.

Estudaram-se os efeitos da adubação sobre formação de nitratos na *Brachiaria* sp., planta esta que vem intoxicando gado bovino em várias partes do país. O experimento foi instalado no Horto Frutícola de Macaé, pertencente à Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado do Rio de Janeiro. O delineamento experimental foi fatorial $4 \times 6 \times 3$, com 4 épocas, 6 tratamentos e 3 repetições. Muito embora a análise estatística tenha apresentado significância ao nível de 5% de probabilidade para tratamento $\times$ época, o aumento do nitrato encontrado nas análises não justifica os casos de intoxicação em bovinos. Deverá, portanto, haver outra causa ainda não identificada, responsável pelos casos de intoxicação que vêm ocorrendo no Estado do Rio de Janeiro.

156. Matera A. & Barros P.S.M. 1981. **Anestesia geral no cão. I. Utilização do pentobarbital sódico com administração prévia de cloridrato de xilazina.** [General anesthesia in the dog. I. Use of sodium pentobarbital after the administration of xylazine hydrochloride.] *Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP, S. Paulo*, 18(1): 29-35. Fac. Med. Vet. Zootec., Univ. S. Paulo, Cidade Universitária, Cx. Postal 8191, São Paulo, SP 05508.

São estudados em cães os resultados obtidos com a aplicação endovenosa de cloridrato de xilazina a 2% seguida da administração de pentobarbital sódico a 3%. São comparados os resultados com os obtidos em um lote de 5 animais anestesiados exclusivamente com pentobarbital sódico e observados, nos lotes experimentais, redução da quantidade do barbitúrico consumido e dos tempos médios de duração da fase de anestesia cirúrgica e necessário para o retorno. As frequências de pulso e respiratória mostraram-se diminuídas logo após a aplicação das duas drogas. No tocante a temperatura retal apenas os animais do lote controle apresentaram diferenças significativas ao nível de 0,05.

157. Matera A., Barros P.S.M., Stopiglia A.J. & Randi R.E. 1981. **Hérnia perineal no cão. Tratamento cirúrgico mediante utilização de malha de polipropileno.** [Perineal hernia in the dog. Surgical repair with polypropylene mesh.] *Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP, S. Paulo, 18(1): 37-41.* Fac. Med. Vet. Zootec., Univ. S. Paulo, Cidade Universitária, Cx. Postal 8191, São Paulo, SP 05508.

Foi estudada, em seis animais da espécie canina, técnica operatória para tratamento da hérnia perineal. Foi empregada para oclusão da porta herniária, malha de polipropileno fixada ao tecido muscular circundante por meio de sutura em pontos separados com fio número 00 do mesmo material. Obtiveram-se resultados satisfatórios em todos animais operados que mostraram recuperação completa, sem ocorrência de alterações macroscópicas.

158. Matera A. & Barros P.S.M. 1981. **Anestesia geral no cão. II. Variação da quantidade de pentobarbital sódico em animais pré-medicados com cloridrato de xilazina.** [General anesthesia in the dog. II. Variation in the quantity of sodium pentobarbital in animals pre-medicated with xylazine hydrochloride.] *Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP, S. Paulo, 18(1): 43-47.* Fac. Med. Vet. Zootec., Univ. S. Paulo, Cidade Universitária, Cx. Postal 8191, São Paulo, SP 05508.

Foi estudada, em 25 animais, a anestesia determinada pela aplicação endovenosa de 1,01 a 1,50 miligramas de cloridrato de xilazina para cada quilograma de peso corpóreo seguida da administração de doses variáveis e crescentes de pentobarbital sódico. Foi observada variação dos tempos de anestesia e necessários para o retorno que, comparados aos resultados de um lote controle, mostram diferenças significativas ao nível de rejeição de 0,05.

159. Alvarenga J., Iwasaki M., Silva J.A.P. & Stopiglia A.J. 1981. **Tratamento cirúrgico da persistência do arco aórtico direito em cães.** [Surgical treatment of the persistent right aortic arch in dogs.] *Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP, S. Paulo, 18(1): 49-54.* Fac. Med. Vet. Zootec., Univ. S. Paulo, Cidade Universitária, Cx. Postal 8191, São Paulo, SP 05508.

Foi descrita a ocorrência de seis casos de persistência do arco aórtico direito em cães. Relatou-se a conduta cirúrgica adotada para a correção desta anomalia vascular, bem como o procedimento para diminuir o lume do esôfago que se encontra dilatado nestes casos.

160. Ribeiro P., Panetta J.C. & Riccetti R.V. 1981. **Ocorrência da miopatia exsudativa e despigmentada dos suínos em São Paulo (Brasil).** [The occurrence of exudative myopathy and pale muscles in swine in São Paulo, Brazil.] *Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP, S. Paulo, 18(2): 167-176.* Fac. Med. Vet. Zootec., Univ. S. Paulo, Cidade Universitária, Cx. Postal 8191, São Paulo, SP 05508.

Foram examinadas 87 amostras entre as de lombo, de pernil e de paleta. A inspeção macroscópica desses cortes foi acompanhada da avaliação de algumas características físico-químicas, além de exames histológicos dos músculos *subscapularis*, *longissimus dorsi* e massa muscular formada pela fusão dos músculos *adductor* e *gracilis*. Verificou-se que os segmentos atingidos apresentaram lesões visíveis logo após o abate, observando-se áreas pálidas e exsudativas em 34,4% dos lombos, 27,5% dos pernis e 10,3% das paletas. A afecção manifestou-se com maior intensidade nos lombos (20%) e pernis (12,5%). Nas paletas não foram observadas lesões acentuadas. O pH das carnes afetadas, 45 minutos após o abate foi mais baixo que o das carnes normais. Apesar dos valores para a umidade total permanecerem inalterados, houve maior perda de água pelas fibras musculares devido à diminuição de sua capacidade de retenção. As fibras musculares revelaram-se homogêneas (sem estriações), às vezes fragmentadas e nas lesões acentuadas apresentaram fragmentação intensa. Nas áreas contíguas às lesões, apesar da musculatura ainda apresentar aparência macroscópica normal, as características físico-químicas e as estruturas histológicas já estavam modificadas com tendência a evidenciar as alterações típicas da afecção em estudo. Esses dados permitiram-nos concluir que carcaças de suínos do tipo comum, usualmente destinados ao abate, são passíveis de apresentarem lesões devidas à miopatia exsudativa e despigmentada.

ANATOMIA E FISIOLOGIA

161. Nascimento M.D., Ribeiro A.G.P. & Pinheiro J.G. 1981. **Correlação entre os níveis de cálcio, fósforo e magnésio no sangue e líquido céfalo-raquídeo de bezerras.** [Correlation between the levels of calcium, phosphorus and magnesium in the blood and cerebrospinal fluid of calves.] *Revta Bras. Med. Vet. 4(2): 25-26.* Fac. Veterinária, Univ. Fed. Fluminense, Rua Vital Brasil Filho 64, Niterói, RJ 24230.

Valores médios de $8,98 \pm 1,21$ mg%, $8,48 \pm 3,16$ mg% e $2,13 \pm 0,86$ mg% foram encontrados no soro sanguíneo de bezerras de pré-ano, respectivamente para o cálcio, fósforo e magnésio. No líquido céfalo-raquídeo os valores médios respectivos foram de $4,62 \pm 0,94$ mg%, $2,13 \pm 0,86$ mg% e $2,08 \pm 0,57$ mg%. Estabelecendo-se algumas correlações, observa-se a proporção 1:1 entre o cálcio e fósforo séricos nos bezerras estudados; nos níveis de fósforo a correlação é de aproximadamente 3:1 entre o soro sanguíneo e o LCR; e resultados quase idênticos são encontrados nas concentrações de magnésio no sangue e LCR, aproximadamente de 1:1.

162. Azevedo J.J. & Rodrigues P.C. 1981. **Idade a primeira cria em rebanho Guzerá.** [Age at first calving in Guzera cattle.] *Revta Bras. Med. Vet. 4(4): 38-39.* Depto Zootecnia, Univ. Fed. Fluminense, Rua Vital Brasil Filho 64, Niterói, RJ 24230.

O presente trabalho aborda uma contribuição ao estudo da raça Guzerá, no que concerne à idade à primeira cria, bem como focaliza a distribuição mensal de nascimentos, no plantel

da Fazenda Itaoca, mun. Cantagalo, Rio de Janeiro. A maior faixa de concentração de nascimentos se verificou no mês de julho, havendo uma certa diminuição no início da seca, bem como no início das águas, mantendo os demais meses certa uniformidade. A média encontrada referente à idade à primeira cria correspondeu a $46,5 \pm 0,7$ meses e o desvio padrão foi de 8,7 meses. A parição mais precoce foi aos 33 meses e a mais tardia aos 73 meses.

163. Borelli V. & Pereira J.G.L. 1981. **Estudo topográfico e histológico do nó sinu-atrial em muare.** [Topographical and histological study of the atrial sinus in mules.] *Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP, S. Paulo, 18(1): 7-10.* Fac. Med. Vet. Zootec., Univ. S. Paulo, Cidade Universitária, Cx. Postal 8191, São Paulo, SP 05508.

A topografia e os aspectos histológicos do nó sinu-atrial em muare são estudados. A aludida estrutura localiza-se no terço superior do sulco terminal, ângulo diedro cavo-atrial e face esquerda da junção da veia cava cranial com o átrio direito. O tecido nodal apresenta-se constituído por células delicadas, com núcleo único ou duplo de forma arredonda ou ovóide, nucléolo nítido e citoplasma acidófilo. No citoplasma das células do referido tecido o glicogênio se mostra abundante.

164. Oliveira M.C., Silva P.P., Orsi A.M. & Dias S.M. 1981. **Estudo da obliteração pós-natal do forâmen oval no cão (Canis familiaris).** [Anatomical closure of the ductus arteriosus in the dog (Canis familiaris).] *Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP, S. Paulo, 18(1): 11-13.* Fac. Med. Vet. Zootec., Campus de Botucatu (UNESP), Botucatu, SP 18600.

A observação do fechamento anatômico do forâmen oval foi feita em 124 cães, sem raça definida (57 machos e 67 fêmeas), com idade variando entre 3 horas e 21 dias de vida. Notou-se que nos animais com até 1 dia de vida, o forâmen oval apresentava-se aberto em todos os casos. Nos animais com 2 dias, foram encontrados 16% de forâmens fechados; com 3 dias de vida, 18% dos forâmens examinados estavam obliterados; com 4 dias de vida, 50%; com 5 dias, 62%, e acima de 6 dias de vida, o forâmen oval se apresentou anatomicamente fechado em 100% dos casos examinados.

165. Vicentini C.A., Orsi A.M., Silva Z., Campos V.J.M. & Dias S.M. 1981. **Comportamento anatômico das artérias umbilical (lig. redondo da bexiga) e urogenital na cobaia (Cavia porcellus, L., 1756).** [Anatomical pattern of the umbilical (round lig. of the urinary bladder) and urogenital artery in the guinea pig (Cavia porcellus, L., 1756).] *Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP, S. Paulo, 18(1): 15-17.* Fac. Med. Vet. Zootec., Campus de Botucatu (UNESP), Botucatu, SP 18600.

Foi realizado estudo anatômico dos ramos viscerais da a. ilíaca interna na cobaia. Foram utilizadas 20 cobaias (10 machos e 10 fêmeas), adultas, sacrificadas com éter etílico (saturação anestésica), injetadas com contraste na aorta abdominal (látex corado) e dissecadas sob lupa. Em resultados são descritas a origem e a perviedade da a. umbilical e a origem

e a ramescência da a. urogenital. Estas observações na cobaia foram comparativamente discutidas com outras semelhante-mente descritas em diferentes mamíferos incluindo: outros roedores de laboratório, gato, cão, coelho e Homem.

166. Barnabe V.H., Barnabe R.C., Visintin J.A., Viana W.G., Casagrande J.F. & Almeida C.A. 1981. **Comparative study between phase contrast and differential interference contrast microscopies for evaluation of frozen bull semen.** [Avaliação de sêmen congelado de bovinos, com especial referência à integridade do acrossomo.] *Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP, S. Paulo, 18(1): 55-59.* Fac. Med. Vet. Zootec., Univ. S. Paulo, Cidade Universitária, Cx. Postal 8191, São Paulo, SP 05508.

Duzentas ampolas de sêmen de bovinos, constituindo 4 grupos de 50, correspondentes a congelamento efetuado nos anos de 1975, 1976, 1977 e 1978, foram estudadas para avaliação da porcentagem de patologia do acrossomo e de defeitos maiores e menores. Os exames foram realizados após o descongelamento e após submissão às provas rápida (1 hora a 45°C) e lenta (5 horas a 38°C) de termo resistência, em microscopia de contraste de fase e em microscopia de contraste de interferência diferencial. Os resultados das análises de variância mostraram haver diferença estatística, altamente significativa ($P < 0,01$), a favor da microscopia de contraste de interferência diferencial para patologia do acrossomo e defeitos maiores, o mesmo não ocorrendo em relação aos defeitos manores.

167. Barnabe R.C., Barnabe V.H., Viana W.G., Visintin J.A., Casagrande J.F. & Almeida C.A. 1981. **Correlações entre motilidade progressiva e retenção do acrossomo em sêmen congelado de bovinos após o descongelamento e após provas de termorresistência.** [Correlation between progressive motility and the retention of the acrosome in frozen cattle semen after thawing and thermal resistance tests.] *Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP, S. Paulo, 18(1): 61-68.* Fac. Med. Vet. Zootec., Univ. S. Paulo, Cidade Universitária, Cx. Postal 8191, São Paulo, SP 05508.

Duzentas ampolas de sêmen de bovinos foram analisadas visando o estudo de correlações entre a motilidade progressiva dos espermatozoides após o descongelamento e após as provas rápida (1 hora a 45°C) e lenta (5 horas a 38°C) de termorresistência e a prova de retenção do acrossomo. Os exames da motilidade progressiva foram realizados em microscópio óptico, com aumento de 200x e a prova de retenção do acrossomo em microscopia de contraste de fase com aumento de 1000x e em microscopia de contraste de interferência diferencial, com aumento de 1250x, ambas com objetiva de imersão. As análises estatísticas revelaram as seguintes correlações significativas ($P < 0,01$) entre motilidade progressiva dos espermatozoides e a prova de retenção do acrossomo: a) negativa para ambas as características após o descongelamento; b) positiva para motilidade progressiva após a prova rápida de termorresistência e retenção do acrossomo após o descongelamento; c) negativa para ambas as características após as provas rápida e lenta de termorresistência.

168. Nogueira Filho J.C.M. & Lucci C.S. 1981. **Efeitos de diferentes temperaturas sobre garrotes de origem européia. I. Frequências respiratórias e temperaturas retais.** [Effect of different temperatures on European steer. I. Respiration rates and rectal temperatures.] *Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP, S. Paulo, 18(2): 105-109.* Fac. Med. Vet. Zootec., Univ. S. Paulo, Cidade Universitária, Cx. Postal 8191, São Paulo, SP 05508.

Doze garrotes machos castrados, com alto grau de sangue europeu e aproximadamente 2 anos de idade foram utilizados em um esquema fatorial 2 x 2 num delineamento "change-over", comparando os tratamentos: A) meio ambiente + ração de volumosos; B) meio ambiente + ração de volumosos e concentrados; C) câmara climática + ração de volumosos e concentrados; D) câmara climática + ração de volumosos e concentrados. Os bovinos destinados a câmara climática ali permaneceram 23 horas por dia, submetidos a temperatura de 32°C e 86% de umidade relativa do ar, e apresentaram maiores frequências respiratórias ($P \leq 0,01$) e temperaturas respiratórias ($P \leq 0,01$) que os animais deixados fora da câmara. Isolando-se os tratamentos C e D (interior da câmara) ocorreram maiores temperaturas ($P \leq 0,01$) no tratamento D, correspondente à ração com concentrados além do feno.

169. Nogueira Filho J.C.M. & Lucci C.S. 1981. **Efeitos de diferentes temperaturas sobre garrotes de origem européia. II. Desempenho.** [Effect of different temperatures on European steer. II. Performance.] *Revta Fac. Med. Vet. Zootec. USP, S. Paulo, 18(2): 111-115.* Fac. Med. Zootec., Univ. S. Paulo, Cidade Universitária, Cx. Postal 8191, São Paulo, SP 05508.

Doze garrotes machos castrados, com alto grau de sangue europeu e aproximadamente 2 anos de idade foram utilizados em um esquema fatorial 2 x 2 num delineamento "change-over", comparando os tratamentos: A) meio ambiente + ração de volumosos; B) meio ambiente + ração de volumosos e concentrados; C) câmara climática + ração de volumosos e concentrados; D) câmara climática + ração de volumosos e concentrados. Os bovinos na câmara climática apresentaram menores consumos de volumosos ($P \leq 0,01$) que os bovinos no ambiente. A adição de concentrados não alterou o consumo de volumosos dos animais fora da câmara, mas deprimiu dentro da câmara ($P \leq 0,01$). Os animais beberam mais água ($P \leq 0,01$) nas rações com concentrados, dentro como fora da câmara. Os ganhos de peso foram maiores ($P \leq 0,05$) no tratamento B, com concentrados no ambiente, em relação aos obtidos com concentrados na câmara climática. (D).

REVISTAS INCLUÍDAS NA PREPARAÇÃO DOS RESUMOS PARA PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

- 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"
Bolm 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

DETERMINAÇÃO DA PERSISTÊNCIA DE PENICILINA NO LEITE ATRAVÉS DE ENSAIO RÁDIO-IMUNOLÓGICO ("CHARM TEST")¹

RUDI WEIBLEN² E SIDNEY L. SPAHR³

ABSTRACT.- Weiblen R. & Spahr S.L. 1982. [Detection of Penicillin in milk with the Radio-immunoassay technique (Charm Test).] Determinação da persistência de penicilina no leite através de ensaio rádio-imunológico ("Charm Test"). *Pesquisa Veterinária Brasileira* 2(4):133-137. Dept. Vet. Pathobiology, College Vet. Med., University of Illinois, Urbana, Illinois 61801, U.S.A.

Eleven dairy cows in different stages of lactation were treated with cefa-lak or cefa-lak combined with Procaine Penicillin G. Four cows treated with cefa-lak were paired with four untreated cows and their milk tested for penicillin residue by the Charm Test. Cows treated with cefa-lak only, had 50% of the samples positive at one sample beyond the withdrawal time. Combination of cefa-lak and Procaine Penicillin G also had positive samples after the recommended withdrawal time. Carry over of penicillin residues through the milking equipment was observed. This finding suggests that milking equipment be completely rinsed after milking treated cows, or that treated cows be milked after untreated cows. Sensitivity of the Charm Test was confirmed and the data indicate that new withholding times should be investigated using more animals, so that a definitive recommendation can be made.

INDEX TERMS: Penicillin, detection in milk, radioimmunoassay technique, Charm Test, cattle.

SINOPSE.- Onze vacas em diferentes fases de lactação foram tratadas com cefa-lak ou cefa-lak em combinação com Penicilina G Procinada, e quatro vacas tratadas com cefa-lak foram pareadas com quatro outras não tratadas. O leite destes animais foi testado pelo ensaio rádio-imunológico para determinar a persistência de penicilina no leite. Das vacas só tratadas com cefa-lak, 50% apresentaram o leite contaminado por penicilina 108 horas após o tratamento, enquanto que a recomendação do laboratório que produz o medicamento indicava uma retenção do leite por 96 horas o tratamento. Animais tratados com cefa-lak em combinação com Penicilina G Procinada também apresentaram amostras positivas além das horas recomendadas para a retenção do produto. Foi observado o transporte de Penicilina, através da ordenhadeira, do leite dos animais tratados para o dos não tratados. Esta observação sugere que uma limpeza completa deva ser feita na ordenhadeira após a ordenha de animais tratados para que esta contaminação não aconteça ou, ainda melhor, que todas as vacas tratadas só sejam ordenhadas depois que todas as vacas não medicadas o tenham sido. A eficiência do ensaio foi observada. Os dados sugerem que deva ser estudado um novo período de retenção para estes produtos. Maior número de animais deverá ser utilizado para que possam ser alcançadas conclusões definitivas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Penicilina, determinação no leite, persistência no leite, ensaio rádio-imunológico, Charm Test, bovinos.

INTRODUÇÃO

A presença de antibióticos no leite constitui uma infração da lei, perante o órgão de administração de medicamentos e alimentos (Food and Drug Administration, U.S.A.). A penicilina é uma preocupação especial para os órgãos da saúde pública, nos Estados Unidos, visto que este produto pode produzir reações alérgicas em pessoas sensibilizadas. Foi estimado nos Estados Unidos que 17 a 20 milhões de pessoas podem ter reações alérgicas durante a vida. Possivelmente através de repetidas ingestões de pequenas quantidades de antibióticos em alimentos, especialmente no leite e derivados, as pessoas podem ficar sensibilizadas contra estes medicamentos (Rosa-nove & Stader 1961). Inúmeras reações severas e fatais devidas à penicilina foram observadas e despertaram a atenção em diversos países no mundo inteiro.

Dos antibióticos usuais, a penicilina é dos mais frequentemente encontrados em alimentos. Welch et al. (1957), em levantamento estimativo de âmbito nacional dos Estados Unidos, verificaram que 95% das reações anafiláticas e 85% de outras reações moderadas contra antibióticos eram causadas pela penicilina. Demonstraram também a presença de penicilina em 3,2, 11,6 e 5,9% dos laticínios distribuídos durante os três anos do levantamento. As concentrações encontradas variavam de 0,003 a 0,550 UI por ml, ou até 550 UI por litro.

A administração intramamária de antibióticos é uma das principais fontes de resíduos desses produtos no leite (Ziv et

¹ Aceito para publicação em 1 março de 1982.

² Department of Veterinary Pathobiology, College of Veterinary Medicine, University of Illinois, Urbana, Illinois 61801, U.S.A.

³ Department of Dairy Science, University of Illinois, Urbana, Illinois 61801, U.S.A.

al. 1974). A eliminação de antibióticos pelo úbere é condicionada pelo tipo de emoliente usado, quantidade de leite produzido, características do produto usado e condição do úbere. A implicação do veículo usado (de rápida ou lenta eliminação) e a concentração do medicamento no leite têm merecido a atenção das autoridades e o assunto tem sido revisado (Mercer et al. 1976).

Os resultados obtidos nas diferentes pesquisas geram contradições quanto ao período de retenção do produto e sobre o efeito terapêutico dos diferentes medicamentos usados. Maior concentração do antibiótico e sua persistência por mais tempo é o desejado, do ponto de vista do tratamento, mas a situação é totalmente inversa quando se considera o possível resíduo do antibiótico no leite (Siddique et al. 1965). Vários antibióticos persistem no leite por mais de 96 horas após a administração do medicamento por via intramamária (Albright et al. 1961, Mercer et al. 1970).

A solução para este problema tem sido amplamente pesquisada e o uso de emolientes de rápida eliminação talvez seja a solução, mas provavelmente deverá ser usada uma dose maior do produto para compensar o curto período de ação do antibiótico (Wilkinson 1969). Pesquisadores têm declarado que maiores concentrações de antibióticos e ação mais prolongada destes são desejáveis, mas estas opiniões foram geradas de dados provenientes da concentração do produto no leite; isto talvez não mostre, necessariamente, a concentração e duração de antibióticos no úbere (Ziv 1980).

O úbere bovino é um órgão no qual é difícil estudar o comportamento de medicamentos. O método mais comumente usado é o de medir o índice de eliminação de determinado produto e também a percentagem do antibiótico recuperado no leite (Ziv 1980). Embora exista um grande volume de informações sobre a concentração de antibióticos após aplicação intramamária, dados referentes ao período de recuperação destes, após a aplicação, são bastante limitados. A recuperação de antibióticos no leite é influenciada por diversos fatores. Entre os mais importantes estão o excipiente e o emoliente usados, pois estes componentes determinam a velocidade da liberação do produto no úbere; o tamanho, a quantidade de leite e o índice de absorção do medicamento no úbere são outros fatores interferentes (Ziv 1980).

Presentemente não existe um teste rápido e eficiente para a detecção de antibióticos no leite que possa ser usado por produtores ou em plataformas receptoras de leite. Os fatores limitantes dos testes disponíveis são principalmente os seguintes: a pouca sensibilidade dos testes, insuficientes para a detecção dos níveis desejados, e o longo tempo necessário para sua execução. Através dos anos, diferentes testes foram descritos; cada um foi usado por algum tempo e, depois, abandonado por ter sido suplantado por outro, dotado de maior sensibilidade ou outra vantagem analítica. Tradicionalmente, os testes usados para determinação de penicilina no leite requerem, no mínimo, 3 horas para obtenção dos primeiros resultados. Este longo tempo requerido é um dos maiores obstáculos para a aceitação de tais métodos pelas indústrias de laticínios, pois nenhuma delas pode esperar durante tanto tempo por resultados laboratoriais para só depois descarregar o leite.

Um ensaio rápido para detecção de penicilina no leite ("Charm Test"⁴) foi recentemente descrito (Anonymous 1980) com a informação de que os primeiros resultados podem ser obtidos em 15 minutos, podendo ser analisadas 8 amostras por hora. Abdurahman e Parsons (1980a) fizeram um estudo comparativo do "Disc Assay" e "Difco Assay" com o Charm Test para a detecção de penicilina no leite. O Disc Assay e o Método Difco detectaram penicilina, respectivamente, em apenas 63 e 76% das amostras nas quais o Charm Test no nível O detectou esse antibiótico. O Charm Test detectou penicilina por período mais longo após a aplicação intramamária do produto do que os outros testes usados. Em outro experimento de Abdurahman e Parsons (1980b), foi encontrada boa correlação quando o Disc Assay e o Charm Test foram comparados ao nível de 0,025 por ml. O mesmo Charm Test detectou resíduos de antibióticos no leite por mais tempo e foi também mais sensível que o Disc Assay. Quando 173 amostras de leite foram testadas, menos de 1% delas foram confirmadas positivas para penicilina pelo "Standard Disc Method" (*B. subtilis*) e pelo "Delvotest P ampule method" (*B. stearothermophilus*); para o "Disc Assay" e o "Charm Test", o número de amostras positivas variou: o Disc Assay teve menor número de amostras positivas, e o Charm Test, maior número de amostras positivas (Kelly et al. 1980).

Os objetivos deste estudo foram: a) determinar a presença de penicilina no leite de vacas após tratamento, usando o Charm Test (ensaio rádio-imunológico), b) verificar por quanto tempo a penicilina persiste no leite após o tratamento; c) investigar a possibilidade de transporte de penicilina do leite de uma vaca tratada para o de outra não tratada, através da ordenhadeira.

MATERIAL E MÉTODOS

EXPERIMENTO 1

Amostras de leite foram coletadas de 11 vacas em diferentes fases de lactação, pertencentes ao plantel do Departamento de Zootecnia da Universidade de Illinois, durante 10 ordenhas após o tratamento com penicilina. O leite de cada animal foi coletado em frascos individuais após completa mistura do leite obtido na ordenhadeira. As amostras foram refrigeradas a 4°C até serem testadas no mesmo dia da coleta.

Tratamento dos animais

Oito vacas foram tratadas com cefa-lak (cephapirin sodium) 200 mg⁵. O produto foi injetado no quarto mamário afetado com mastite, segundo recomendação do fabricante. O período para a retenção do leite após o tratamento, para este produto, é de 96 horas.

Três vacas foram tratadas com cefa-lak 200 mg em cada quarto mamário afetado com mastite e mais 50 ml de Penicilina Procainada IM (Procaine Penicillin G USP in aqueous suspension pen-aqueous). Cada ml de Procaine Penicillin G tem 300.000 UI com 0,12% Methilparaben e 0,014% Propylparaben como preservativo⁶; este medicamento, segundo o fabricante, tem um período de retenção de 72 horas após o tratamento.

⁴ Penicillin Assays Inc., Boston, Massachusetts 02111, USA.

⁵ Bristol Laboratories, Syracuse, New York 13201, USA.

⁶ Med. Tech. Inc., Elwood, Kansas 66024, USA.

EXPERIMENTO 2

Quatro animais tratados e quatro não tratados foram pareados, e amostras de leite foram coletadas durante quatro ordenhas consecutivas, usando-se a mesma metodologia empregada na primeira etapa.

Procedimento

Quatro vacas tratadas com cefa-lak 200 mg por quarto mamário afetado foram pareadas com quatro vacas não tratadas. As vacas não tratadas foram ordenhadas após a ordenha das vacas tratadas sem se lavar a ordenhadeira entre as ordenhas de cada par de animais.

*Charm Test (RIA) para detecção de penicilina no leite**Reagentes*

Reagente A: carbono radioativo 14. O diluente A foi acondicionado ao reagente A, seguindo instruções do fabricante; a preparação foi feita à temperatura ambiente até obter-se perfeita homogeneização e conservado em gelo enquanto em uso. As sobras não usadas no mesmo dia foram conservadas a -20°C até que seu uso fosse oportuno.

Reagente B: O diluente B foi adicionado ao reagente B à temperatura ambiente, seguindo indicações do fabricante. Após adicionar o primeiro ml, a suspensão foi agitada em agitador mecânico. A suspensão foi então completada e homogeneizada com uma pipeta, para assegurar a perfeita diluição do reagente, e incubada por 5 minutos antes de entrar em uso. As sobras não necessárias para a rotina diária foram conservadas a -20°C .

Solução padrão

O leite controle zero foi preparado em água morna, a partir do leite em pó seguindo as instruções do fabricante. O leite assim preparado era refrigerado para assegurar que todas as amostras estivessem nas mesmas condições quando testadas. Em 100 ml do leite controle zero, eram adicionados 0,05 u/ml da solução padrão. A solução padrão, a 0,008 u/ml, foi conseguida mediante adição de 8 ml de uma solução a 0,05 u/ml em 42 ml do leite controle zero. Todo o equipamento e reagentes usados foram obtidos de Penicillin Assays⁷.

Preparação preliminar

Os reagentes A e B só eram utilizados após incubação por 5 minutos, a contar da preparação, sendo novamente homogeneizados antes do uso. O bloco metálico perfurado era aquecido à temperatura de 90°C . A chapa quente era aquecida a uma temperatura tal que 0,3 ml de água evaporassem rapidamente de um cadinho metálico raso colocado sobre ela. A centrífuga era ligada à velocidade máxima, segundo recomendação do fabricante.

A execução do Charm Test

Pipetam-se 5 ml do leite cru para cada tubo de 13 x 100 mm. Adicionam-se a cada tubo 0,2 ml do reagente A, agitando-se a suspensão no agitador mecânico. Adicionam-se, em seguida, 0,2 ml do reagente B a cada tubo e homogeneiza-se completamente a solução.

Os tubos são colocados no bloco metálico perfurado por 3 minutos a 90°C . Do bloco os tubos são transferidos para a centrífuga e centrifugados por 4 minutos à velocidade máxima. Elimina-se o sobrenadante e lava-se cada tubo por duas vezes, com bastante cuidado para não dispersar o precipitado, depositado no fundo. Após duas lavagens, adicionam-se 0,3 ml de água ao tubo, que é agitado para ressuspender completamente o precipitado. Despeja-se o conteúdo no cadinho, que é colocado sobre a chapa quente. Lava-se o tubo por mais duas vezes, para assegurar que todo o precipitado seja transferido do tubo para o cadinho que, após ficar completamente seco, é inserido no analisador de penicilina por 8 minutos.

Para a determinação de resultados positivos ou negativos levou-se em consideração a média das amostras padrão 0,008 u/ml para os dias

em que as amostras foram analisadas. Leituras que ficavam a 1 desvio padrão da média, abaixo ou acima desta, foram chamadas de valores críticos.

RESULTADOS

Tratamento de vacas com cefa-lak

Resultados das amostras de leite coletadas de oito vacas tratadas com cefa-lak estão sumarizados no Quadro 1. O antibiótico foi detectado até 120 horas após o tratamento em uma vaca, e em 50% das vacas registraram-se amostras positivas 108 horas após o tratamento intramamário com cefa-lak.

Tratamento de vacas com cefa-lak e penicilina procainada

Animais que foram tratados com cefa-lak e penicilina procainada apresentaram amostras positivas até 120 horas após o tratamento. Todas as três vacas tratadas apresentaram amostras positivas até a sexta ordenha pós-tratamento; em duas delas, as amostras permaneceram positivas até a décima coleta após o tratamento. Estes resultados estão sumarizados no Quadro 2.

Transporte de antibióticos do leite de vacas tratadas para o das não tratadas

Amostras de leite de quatro vacas tratadas e de quatro não tratadas, coletadas sem lavagem da ordenhadeira, foram analisadas pelo Charm Test. O transporte do antibiótico foi detectado no leite de todas as vacas não tratadas.

Na primeira e segunda coletas, 50% das amostras de leite dos animais não tratados continham resíduos do antibiótico, quando testadas pelo Charm Test. Na terceira amostragem pós-tratamento, o leite de todas as vacas apresentou-se contaminado com antibióticos quando testado pelo Charm Test. Na quarta amostra coletada do grupo controle, o leite já não estava mais contaminado quando testado pelo ensaio rádio-imunológico. Os resultados encontram-se no Quadro 3.

DISCUSSÃO

O presente trabalho teve como objetivo determinar a presença de penicilina no leite usando o Charm Test. Vacas que foram tratadas com cefa-lak (Quadro 1) apresentaram todas as amostras de leite contaminadas por penicilina 36 horas após o tratamento, duas vacas apresentaram amostras positivas a 96 horas pós-tratamento e quatro apresentaram penicilina no leite 108 horas pós-injeção. O período de retenção deste produto, segundo o fabricante, é de 96 horas; portanto, 50% dos animais apresentaram penicilina no leite após o período de retenção recomendado pelo fabricante.

Segundo as leis americanas, isto representa alteração no produto, não importando se esta quantidade é suficiente para desencadear uma reação alérgica num indivíduo sensibilizado. A razão da eliminação intermitente da penicilina no leite, por algumas vacas tratadas, não é conhecida e necessita futuras investigações. O Charm Test é um teste qualitativo e não quantitativo e para saber-se a quantidade de antibiótico eliminado, outro teste teria de ser empregado. Resultados semelhantes aos nossos foram encontrados por Abdurahman e Parsons (1980a).

⁷ Penicillin Assays Inc., Boston, Massachusetts 02111, USA.

Quadro 1. Antibióticos no leite após injeção intramamária, detectados pelo Charm Test (Experimento 1)

Identificação do animal	Tratamento	Resultados apresentados pelas amostras de leite colhidas nas dez primeiras ordenhas após o tratamento									
		1ª (12h)	2ª (24h)	3ª (36h)	4ª (48h)	5ª (60h)	6ª (72h)	7ª (84h)	8ª (96h)	9ª (108h)	10ª ordenha (120h)
3285	200 mg de cephapirin PD, PE ^(a)	+(b)	+	+	—	+	+	—	—	+	?
3668	" PD	+	+	+	+	?	+	?	+	—	—
3723	" PD	+	+	+	+	+	—	?	—	+	—
3804	" PE	+	+	+	+	+	?	+	?	—	—
3723	" PD	+	+	+	+	?	+	—	—	—	—
3804	" PE	+	+	+	+	+	—	?	?	+	?
4229	" AE	+	+	+	+	+	+	+	—	—	?
3991	" AE, PE, PD	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Número de amostras positivas		8/8	8/8	8/8	7/8	6/8	5/8	3/8	2/8	4/8	1/8
% positivas		100	100	100	87,5	75	62,5	37,5	25	50	12,5

(a) PD quarto posterior direito, PE quarto posterior esquerdo, AE quarto anterior esquerdo.

(b) + positivo, — negativo, ? valores críticos.

Quadro 2. Antibióticos no leite após injeção intramamária, detectados pelo Charm Test, e tratamento parenteral (Experimento 1)

Identificação do animal	Tratamento	Resultados apresentados pelas amostras de leite colhidas nas dez primeiras ordenhas após o tratamento									
		1ª (12h)	2ª (24h)	3ª (36h)	4ª (48h)	5ª (60h)	6ª (72h)	7ª (84h)	8ª (96h)	9ª (108h)	10ª ordenha (120h)
3991	200 mg de cephapirin PE ^(a) e 50 ml de penicilina procainada IM	+(b)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3962	200 mg de cephapirin PD e 50 ml de penicilina procainada IM	+	+	+	+	+	+	—	—	?	+
3968	200 mg de cephapirin PE e 50 ml de penicilina procainada IM	+	+	+	+	+	+	+	+	+	?
Número de amostras positivas		3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	2/3	2/3	2/3	2/3
% positivas		100	100	100	100	100	100	66,7	66,7	66,7	66,7

(a) PD quarto posterior direito, PE quarto posterior esquerdo.

(b) + positivo, — negativo, ? valores críticos.

Estes autores observaram que em todos os casos testados o leite estava contaminado com antibióticos duas ordenhas além do período de retenção recomendado pelo fabricante, quando as amostras foram testadas pelo Charm Test. A retenção recomendada, no trabalho dos citados autores, indicava o uso do leite somente 60 horas após o tratamento. No nosso caso, observamos 50% das amostras positivas (4/8) 108 horas pós-tratamento, e somente uma amostra (12,5%, 1/8), 120 horas pós-tratamento. O animal que apresentava penicilina 120 horas pós-injeção intramamária tinha sido tratado em três quartos (AE, PE, PD); talvez esta seja a razão pela qual este animal apresentou penicilina na última amostra de leite coletada.

Mercer et al. (1976) constataram que a eliminação de antibiótico do úbere depende do emoliente usado, da quantidade de leite produzido e da condição do úbere. Antibióticos com maior concentração são recomendados para casos mais severos, mas esta condição inverte-se quando se considera a possível contaminação pós-tratamento. Para este caso o ideal seria o uso de antibióticos em menor concentração (Siddique et al. 1965).

O tratamento combinado de cefa-lak e penicilina procainada (Quadro 3) usado em três vacas apresentou todas as amos-

tras positivas até a sexta ordenha (72 horas pós-tratamento). O período de retenção para a penicilina procaina é de 72 horas. Como cefa-lak também havia sido usado, era de esperar-se que as amostras permanecessem positivas por mais tempo. O período de retenção para este último produto é de 96 horas, talvez a alta percentagem de amostras positivas seja devida à combinação dos dois medicamentos usados ou à grande dose de penicilina procainada usada nos animais do Quadro 2. Outra razão pode ser a excelente sensibilidade do teste, como foi observado por Abdurahman e Parsons (1980a).

No estudo do transporte de antibióticos através da ordenha-deira, fatos surpreendentes foram encontrados. Na primeira amostra coletada, dois animais do grupo controle continham penicilina no leite, e na segunda amostra os mesmos animais encontravam-se positivos. Fato inesperado ocorreu na terceira amostra coletada, pois os quatro animais controles tinham penicilina no leite, quando testados pelo Charm Test. Levando-se em consideração estes fatos, recomenda-se que todo equipamento de ordenha que tenha contato com leite contaminado seja completamente lavado antes de ordenhar-se vacas não tratadas. Melhor ainda seria que todos os animais tratados só fossem ordenhados após a ordenha de todas as vacas sadias.

Quadro 3. *Transporte de antibiótico do leite de animais tratados para o de animais não tratados através da ordenhadeira, revelado pelo Charm Test (Experimento 2)*

Identificação do animal	Condição	Resultados apresentados pelas amostras de leite colhidas nas quatro primeiras ordenhas após o tratamento				Número de amostras positivas	% de amostras positivas
		1 ^a (12h)	2 ^a (24h)	3 ^a (36h)	4 ^a ordenha (48h)		
3796	200 mg de cephalpirin AE ^(a)	+(b)	+	+	+	4/4	100
3818	Controle	+	+	+	—	3/4	75
3285	200 mg de cephalpirin AE	+	+	+	+	4/4	100
3790	Controle	+	+	+	—	3/4	75
3791	200 mg de cephalpirin PE	+	+	+	+	4/4	100
3944	Controle	—	—	+	—	1/4	25
3821	200 mg de cephalpirin PD	+	?	+	—	2/4	50
3916	Controle	—	—	+	—	1/4	25

(a) PD quarto posterior direito, PE quarto posterior esquerdo, AE quarto anterior esquerdo.

(b) + positivo, — negativo, ? valores críticos.

REFERÊNCIAS

- Abdurahman E. & Parsons J.G. 1980a. Comparative evaluation of the Disc Assay, Difco Disc Assay and Charm Test for detecting penicillin in milk. *J. Dairy Sci.* 63, Suppl. 1:39.
- Abdurahman E. & Parsons J.G. 1980b. Duration of antibiotics in milk from cows treated via intrauterine infusion. *J. Dairy Sci.* 63, Suppl. 1:39-40.
- Albright J.L., Tuckey S.L. & Woods G.T. 1961. Antibiotics in milk. A review. *J. Dairy Sci.* 44:779-807.
- Anonymous 1980. Tests for antibiotics in milk. *Am. Dairy Review*, Aug./Dec.
- Kelly D.G., Gough R.H. & Gholson J.H. 1980. Testing for penicillin residue in milk. *J. Dairy Sci.* 63, Suppl. 1:171.
- Mercer H.D., Geleta J.N., Schultz E.J. & Wright W.W. 1970. Milk-out rates for antibiotics in intramammary infusion products used in the treatment of bovine mastitis. Relationship of somatic cell counts, milk production level, and drug vehicle. *Am. J. Vet. Res.* 31:1549-1560.
- Mercer H.D., Geleta J.N., Baldwin R.A. & Shimoda W. 1976. Viewpoint and current concepts regarding accepted tried products for control of bovine mastitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 169:1104-1114.
- Rosanove R. & Stader R. 1961. Antibiotics in milk after mastitis therapy. *Aust. Vet. J.* 37:345-348.
- Siddique I.H., Loken K.I. & Hoyt H.H. 1965. Concentrations of Neomycin, Dihydrostreptomycin, and Polymyxin in milk after intramuscular or intramammary administration. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 146:594-599.
- Welch H., Lewis C.N., Weisten H.I. & Boeckman B.B. 1958. In: H. Welch & F. Marti-Ibanez (ed.) *Antibiotics Annual. Medical Encyclopedia Inc., New York.*
- Wilkinson F.C. 1969. Dry cow therapy in bovine mastitis. *Aust. Vet. J.* 45:433-434.
- Ziv G., Gordin S. & Bechar G. 1974. Mode of transfer of antibiotics from treated to non-treated quarters in dairy cows. *Am. J. Vet. Res.* 35:643-647.
- Ziv G. 1980. Practical pharmacokinetic aspects of mastitis therapy. 3. Intramammary treatment. *V.M./SC.* 75:657-670.

FLUTUAÇÃO POPULACIONAL DE *Cochliomyia hominivorax* NO MUNICÍPIO DE ITAGUAÍ, RIO DE JANEIRO¹

CARLOS M.B. OLIVEIRA², GONZALO E. MOYA³ E RUBENS P. MELLO⁴

ABSTRACT.- Oliveira C.M.B., Moya G.E. & Mello R.P. 1982. [Population fluctuation of *Cochliomyia hominivorax* in the county of Itaguaí, Rio de Janeiro.] Flutuação populacional de *Cochliomyia hominivorax* no município de Itaguaí, Rio de Janeiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 2(4):139-142. Fac. Vet., Univ. Fed. Rio Grande do Sul, Cx. Postal 2172, Porto Alegre, RS 90000, Brazil.

The population fluctuation of *Cochliomyia hominivorax* was measured in the County of Itaguaí, Rio de Janeiro, from September, 1979 through August, 1980, using wind-oriented traps baited with spoiled beef liver. The fly was found every month throughout the year, being less abundant during the months with high rainfall (November-April). The fluctuation of the populations of *C. macellaria* and other dipterans captured in the same traps was similar to that of *C. hominivorax*. The greatest concentrations of insects were recorded in areas well protected by trees and bushes, containing high numbers of domestic animals. Almost 93% of the *C. hominivorax* females caught in the traps were inseminated.

INDEX TERMS: *Cochliomyia hominivorax*, *Cochliomyia macellaria*, population fluctuation, cutaneous myiasis, Brazil.

SINOPSE.- Entre setembro de 1979 e agosto de 1980, foi medida a flutuação populacional de *Cochliomyia hominivorax*, em Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro, empregando-se armadilhas orientadas pelo vento, iscadas com fígado deteriorado de bovino. Esta mosca foi encontrada em todos os meses do ano, sendo menos abundante naqueles em que os índices pluviométricos foram maiores (novembro até abril). A flutuação das populações de *C. macellaria* e de "outras moscas" capturadas nas armadilhas foi similar à de *C. hominivorax*. As maiores concentrações de insetos foram registradas nos locais protegidos por árvores e arbustos e com a presença de maior número de animais domésticos. Quase 93% das fêmeas de *C. hominivorax* apanhadas pelas armadilhas estavam fecundadas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Cochliomyia hominivorax*, *Cochliomyia macellaria*, flutuação populacional, miases cutâneas, Brasil.

INTRODUÇÃO

Cochliomyia hominivorax (Diptera: Calliphoridae) é o agente responsável pela miase cutânea primária no continente americano, sendo encontrada em todas as regiões quentes e temperadas. Na sua fase larval é parasita do homem e de outros animais

de sangue quente, nos quais promove intensa destruição dos tecidos cutâneos e muscular. Os prejuízos econômicos decorrentes deste parasitismo foram assinalados, entre outros, por Jefferson (1960) e por Baumhover (1966).

O estudo da flutuação das populações de *C. hominivorax*, como medida prévia à erradicação ou ao combate deste parasito nos U.S.A. e México, foi realizado por vários pesquisadores. Assim, Parman (1945) observou que durante o inverno a população de *C. hominivorax* dos U.S.A. se concentrava nos estados do Sul e que os adultos tinham sua atividade retardada, embora não houvesse um período definido de diapausa. Além da temperatura, o autor acredita que a chuva seria um dos fatores limitantes da sobrevivência da mosca. Deonier (1946) verificou que as temperaturas extremamente altas não impedem o aumento populacional do inseto, se a umidade for favorável, enquanto que Hightower e Alley (1963) constataram diminuição na atividade da mosca, quando o tempo era seco e quente, aumentando após as chuvas.

Num estudo realizado no norte do México, a sobrevivência de *C. hominivorax* foi limitada pelas baixas temperaturas de inverno e pelos períodos secos e quentes (Hightower et al. 1966).

Rahn e Barger (1973) registraram que os períodos de precipitação moderada ou pesada geralmente eram seguidos por um aumento no número de casos de miases dentro de algumas semanas e que a atividade da mosca parecia diminuir quando as temperaturas eram elevadas. Os autores admitem um limiar crítico de 35°C para a sobrevivência das pupas de *C. hominivorax*. Jones et al. (1976) determinaram a ocorrência estacional de *C. hominivorax* em Tamaulipas, México, no período 1973-74, empregando armadilhas iscadas com fígado. As maiores capturas ocorreram entre agosto-outubro e as menores no período abril-junho.

¹ Aceito para publicação em 18 de maio de 1982.

Constitui parte da Tese de Doutorado do primeiro autor, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

² Faculdade de Veterinária, Univ. Fed. Rio Grande do Sul, Cx. Postal 2172, Porto Alegre, RS 90000; bolsista do CNPq.

³ Instituto de Biologia, UFRRJ, Seropédica, RJ 23460; bolsista do CNPq.

⁴ Instituto de Biologia, UFRRJ.

Em 1977, Broce et al. idealizaram um modelo de armadilha para mosca, que se caracteriza por manter a sua abertura constantemente orientada no sentido do vento, com a finalidade de aproveitar o forte poder de atração da isca sobre as moscas. Comparado à armadilha convencional (Screen Trap), o novo modelo (Wind Oriented Trap) foi mais eficaz na captura de *C. hominivorax*.

A ausência de dados publicados sobre flutuação populacional de *C. hominivorax* no Brasil e o desconhecimento da importância que os fatores climáticos locais possam ter nesta flutuação, motivaram a realização do presente trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido entre setembro de 1979 e agosto de 1980, na área experimental da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), município de Itaguaí, Rio de Janeiro, situada à altitude de 33 m.

Foram utilizadas quatro armadilhas orientadas pelo vento (Broce et al. 1977), construídas com baldes plásticos de cor amarela e com capacidade para 10 litros. Para facilitar o manuseio desta armadilha, as duas aletas de alumínio (superior e inferior) existentes no modelo original foram substituídas por uma aleta única, situada em posição anterior à entrada da armadilha, como mostra a Figura 1.

As armadilhas foram dispostas em quatro locais, distantes aproximadamente 1 km entre si, e permaneceram instaladas as 24 horas do dia, durante todo o período experimental, à altura de 1,0 a 1,2 m do solo. O local 1 constituía-se de terreno plano coberto com vegetação baixa (gramíneas – *Brachiaria humidicola* e *Paspalum notatum*) onde eram mantidos 6 a 12 bovinos. O local 2 era a Área Experimental de Parasitologia Veterinária, a 50 m de dois estábulos com pequeno número de bovinos, ovinos, suínos e aves, situado em terreno plano coberto com vegetação constituída de algumas árvores de eucaliptos (*Eucalyptus* sp.) e de jamelão (*Syzygium jambolana*) e gramíneas (*Trypsacum laxum* e *Panicum maximum*). O local 3, constituído de terreno com pequenas elevações coberto com gramínea (*Panicum maximum*), era ocupado com cerca de 100 eqüinos. O local 4 era terreno de pequenas elevações, coberto com gramíneas (*Panicum maximum*, *Cynodon dactylon*). A isca consistia em 500 g de fígado deteriorado de bovino (Coppedge et al. 1977) e era colocada no interior de cada armadilha, dentro de um recipiente de plástico com água suficiente para manter o fígado umedecido. Para reativar-se o princípio atrativo, substituíam-se 50% da isca a cada 10 dias.

Os insetos capturados eram retirados duas ou três vezes por semana e levados ao laboratório onde eram classificados e contados. Fazia-se a determinação de *C. hominivorax* e de *C. macellaria*, com separação por sexo, e os demais eram classificados como "outras moscas". O número médio de indivíduos capturados pelas quatro armadilhas durante um mês era considerado como a população daquela espécie.

Sempre que possível, eram examinadas as espermatecas de *C. hominivorax*, para a constatação de espermatozoides.

Os dados sobre temperatura, umidade relativa e precipitação pluviométrica eram obtidos no Posto Agrometeorológico da Embrapa, Seropédica, Rio de Janeiro.

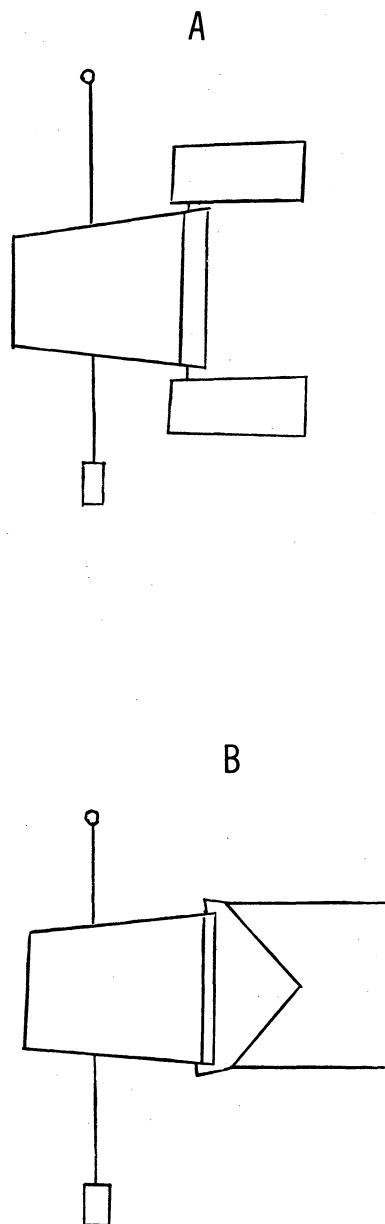


Fig. 1. Armadilha orientada pelo vento: A) Modelo original, com duas aletas de alumínio, segundo Broce et al. (1977). B) Modelo modificado, com aleta de alumínio única, maior, situada em posição anterior à entrada da armadilha.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com os dados do Quadro 1, onde estão incluídas as quantidades absolutas e relativas dos insetos capturados, foi estimada uma relação de 71 *C. macellaria* e de 844 "outras moscas" para cada *C. hominivorax*. Laake et al. (1936), empregando armadilhas iscadas com carne, encontraram a relação de 1:2427 entre *C. hominivorax* e *C. macellaria*. No México, Espinoza (1974), utilizando armadilhas com fígado, capturou um *hominivorax* para cada 500 "outros dípteros". Na Figura 2, constata-se que as três populações consideradas flutuaram uniformemente em quase todo o experimento, havendo algumas exceções nos últimos três meses. As maiores capturas ocorreram nos períodos de setembro-outubro de 1979 e de maio-agosto de 1980, e as menores, entre novembro de 1979 e abril de 1980.

As médias mensais de temperatura e de umidade relativa, registradas durante o experimento (Figura 3), oscilaram dentro de limites adequados às atividades de *C. hominivorax*. Nos meses com temperatura média elevada, em geral, as capturas foram pequenas. Em 1973, Rahn e Barger observaram que temperaturas elevadas (35°C) diminuem a atividade da mosca, o que justificaria as baixas capturas de verão, já que, nesta época do ano, temperaturas de 35°C são frequentes na região estudada. Entretanto, esta relação nem sempre foi verdadeira, pois no mês de fevereiro, que teve a temperatura média mais elevada do ano, as capturas aumentaram levemente.

Deonier (1946) verificou que, quando a umidade relativa é favorável, as temperaturas altas não impedem o aumento da população de *C. hominivorax*. Considerando-se que o verão 1979-80 foi quente e com umidade relativa favorável, as capturas devem ter sido prejudicadas pelos altos índices pluviométricos do período.

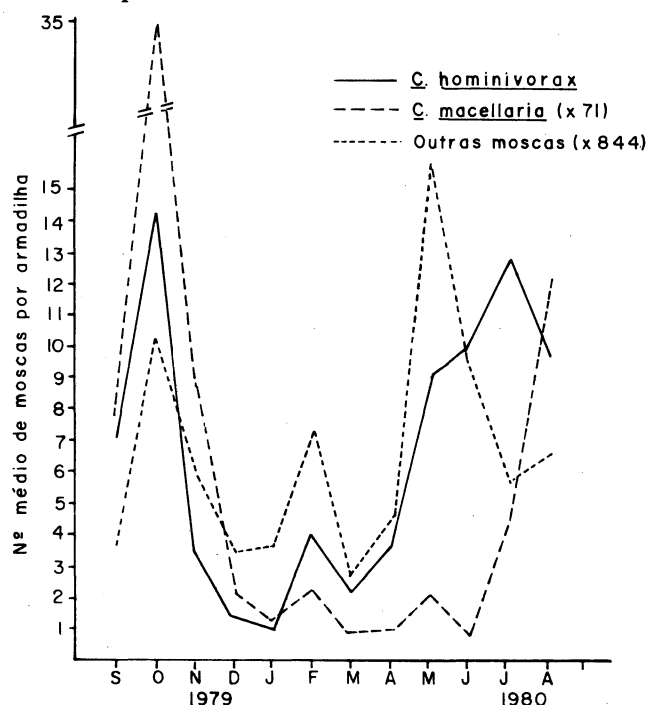


Fig. 2. Flutuação populacional de moscas capturadas em armadilhas, na UFRRJ, Km 47, município de Itaguaí, Rio de Janeiro.

Segundo Parman (1945), os adultos de *C. hominivorax* vivem melhor nos climas moderadamente frescos e úmidos, com o que coincidem os nossos resultados.

A chuva influenciou mais decisivamente o processo de captura (Fig. 2 e 3). Assim, observou-se que as capturas mais elevadas corresponderam aos meses de baixa precipitação e de poucos dias de chuva (outubro/79 e maio-agosto/1980); enquanto que naqueles de precipitação alta e com muitos dias de chuva (nov./79 – abril/80) elas diminuíram.

Nos meses de outubro e de novembro, com temperaturas médias quase idênticas, as capturas foram de 14 e de 3,25 *C. hominivorax*/armadilha, respectivamente. O aumento dos níveis pluviométricos de novembro parece ter motivado a queda observada. Do mesmo modo, o aumento populacional desta mosca em fevereiro coincidiu com a queda dos índices pluviométricos neste mês, em relação a janeiro. O mesmo é válido para explicar as diferenças populacionais ocorridas nos meses de julho e agosto.

O efeito adverso da chuva na atividade de *C. hominivorax* já fora reconhecido por Parman (1945) e por Hightower et al. (1966). Contudo, Rahn e Barger (1973) não encontraram uma relação muito segura entre quantidade de chuva e atividade da mosca, acreditando que a temperatura tenha interferido nesta relação.

A Figura 4 apresenta uma flutuação populacional aproximadamente igual nos quatro locais estudados, embora os totais de moscas tenham sido diferentes de um local para outro. Nos locais 2 e 4, as armadilhas apanharam *C. hominivorax* em todos os meses, o que não ocorreu nos locais 1 e 3. Este resultado mostra que, mesmo havendo uma diminuição de atividade da mosca nos meses mais chuvosos, os hospedeiros são passíveis de se infestarem em qualquer época do ano, na região es-

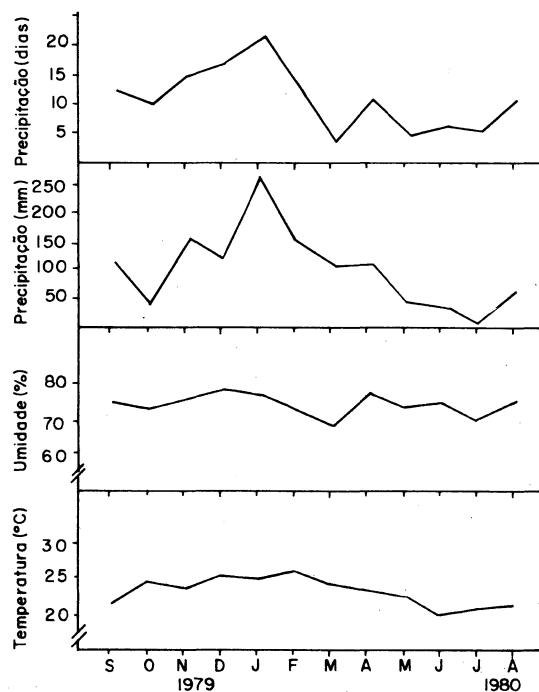


Fig. 3. Dados climáticos da região estudada, registrados pela Estação Meteorológica da EMBRAPA, Km 47, mun. Itaguaí, Rio de Janeiro.

tudada. No Quadro 1 vemos que os locais 4 e 2 foram os mais favoráveis à captura de *C. hominivorax* e de *C. macellaria*. Aproximadamente 50% das primeiras foram apanhadas no local 4; em contraposição, apenas 5,48% foram capturadas no local 1. O pequeno número de animais suscetíveis e a escassez de árvores e arbustos, por certo determinaram a menor concentração de *C. hominivorax* no local 1. Parman (1945) afirmou que as formas adultas são mais abundantes nos locais com sombra e nas áreas usadas para a criação de animais domésticos, já que este inseto precisa destes hospedeiros para realizar as suas posturas. Tal afirmação foi confirmada por Deonier (1946) e por Jones et al. (1976).

Dos 310 exemplares de *C. hominivorax* capturados, somente 5 eram machos, o que indica que o fígado em decomposição é altamente específico para as fêmeas desta espécie. Isto também pode ser verdadeiro para *C. macellaria*, pois 80,09% dos exemplares coletados eram fêmeas.

Foram examinadas as espermatecas de 114 fêmeas de *C. hominivorax*, constatando-se espermatozoides em 106 (92,93%). Coppedge et al. (1977) encontraram o índice de 91% de fêmeas fecundadas nas armadilhas iscadas com fígado.

O grande número de insetos do grupo "outras moscas" e a diversidade das espécies presentes impediram que se procedesse a uma determinação individual dos exemplares; apesar disso, é possível afirmar que a maioria pertencia às famílias Calliphoridae, Sarcophagidae e Muscidae.

Quadro 1. Quantidade de moscas capturadas com armadilhas em quatro lugares da Área Experimental da UFRRJ, entre setembro de 1979 e agosto de 1980

Local	<i>C. hominivorax</i>		<i>C. macellaria</i>		Outras moscas	
	Absoluta	%	Absoluta	%	Absoluta	%
1	17	5,48	3.531	15,97	58.632	22,43
2	84	27,10	7.157	32,36	55.690	21,30
3	60	19,36	2.950	13,34	66.355	25,37
4	147	48,06	8.478	38,33	80.807	30,90
Total	310	100,00	22.116	100,00	261.484	100,00

REFERÊNCIAS

Baumhover A.H. 1966. Eradication of the screwworm fly. J. Am. Med. Assoc. 196(3):240-248.

Broce A.B., Goodenough J.L. & Coppedge J.R. 1977. A wind oriented trap for screwworm flies. J. Econ. Entomol. 70(4):413-416.

Coppedge J.R., Ahrens E., Goodnough J.L., Guillot F.S. & Snow J.W. 1977. Field comparisons of the liver and a new chemical mixture as attractants for the screwworm fly. Envir. Entomol. 6(1):66-68.

Doenier C.C. 1946. Population studies on *Cochliomyia americana* in Arizona. J. Kansas Entomol. Soc. 19(1):26-29.

Spinoza A. 1974. Métodos para coletar gusano barrenador del ganado, *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) en la costa del Pacífico de la República Mexicana. Folia Entomológica Mexicana, nº 29.

Hightower B.G. & Alley D.A. 1963. Local distribution of released laboratory-reared screwworm flies in relation to water sources. J. Econ. Entomol. 56(6):798-802.

Hightower B.G., Davis R.B., Bauhover A.H. & Graham O.H. 1966. Seasonal abundance of screwworm in Northern México. J. Econ. Entomol. 59(2):416-420.

Jefferson M.E. 1960. Irradiated males eliminate screwworm flies. Nucleonics 18(2):74-76.

Jones C.M., Snow J.W. & Villassenor M.A. 1976. Screwworm flies: seasonal occurrence in Central Tamaulipas, México, 1973-74. J. Econ. Entomol. 69(6):761-762.

Laake E.W., Cushing E.C. & Parish H.E. 1936. Biology of the primary screwworm fly, *Cochliomyia americana*, and a comparison of its stages with those of *C. macellaria*. Tech. Bull. nº 500, USDA, Washington, 24 p.

Oliveira C.M.O. 1980. Biologia, Flutuação Populacional e Patologia da *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae). Tese de doutoramento, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, 100p.

Parman D.C. 1945. Effects of weather on *Cochliomyia americana* and a review of methods and economic applications of the study. J. Econ. Entomol. 38(1):66-76.

Rahn J.J. & Barger G.L. 1973. Weather conditions on screwworm activity. Agric. Meteorol. 11(2):197-211.

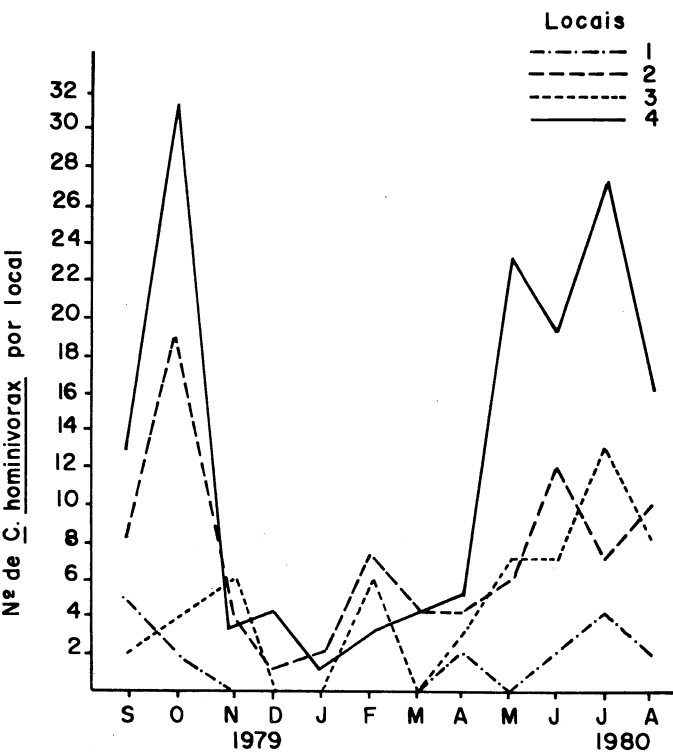


Fig. 4. Flutuação populacional dos adultos de *C. hominivorax* capturados em quatro locais da UFRRJ, Km 47, mun. Itaguaí, Rio de Janeiro.

INTOXICAÇÃO DE BOVINOS POR *Vernonia rubricaulis* (Compositae) EM MATO GROSSO¹

CARLOS HUBINGER TOKARNIA² E JÜRGEN DÖBEREINER³

ABSTRACT.- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1982. [Poisoning of cattle by *Vernonia rubricaulis* (Compositae) in Mato Grosso.] Intoxicação de bovinos por *Vernonia rubricaulis* (Compositae) em Mato Grosso. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 2(4):143-147. Depto Nutrição Animal, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23460, Brazil.

Vernonia rubricaulis H. et B., a plant of the Compositae family, was shown to cause acute poisoning in cattle when administered orally in quantities of 20 g of the fresh plant per kilogram of bodyweight. The dried plant lost much of its toxicity when kept at room temperature for more than one month. The first symptoms of poisoning in the experiments resulting in death, with the fresh as well as the dry plant, appeared at around 24 hours after the plant had been given, the course of poisoning lasting for about 24 hours; the main symptoms observed were lack of appetite, dry muzzle, exhalation with a slight groaning, apathy, slight head tremors and whole body contractions. Post-mortem examination revealed a nutmeg-like appearance of the cut surface of the liver. The contents of the omasum and large intestine were dry and tinged with blood in the colon. The main histopathological findings were massive necrosis of hepatic cells and hydropic-vacuolar and fatty degeneration of the epithelial cells of the uriniferous tubules.

These findings suggest that certain unexplained deaths which occur in the Pantanal region, County of Corumbá, and are characterized by massive liver necrosis, could be caused by the ingestion of *V. rubricaulis*.

INDEX TERMS: Poisonous plants, *Vernonia rubricaulis*, Compositae, plant poisoning, cattle, pathology.

SINOPSE.- *Vernonia rubricaulis* H. et B., um subarbusto da família Compositae, se revelou tóxica para bovinos em quantidades a partir de 20 g da planta fresca por quilo de peso animal, causando um quadro agudo de intoxicação. Em estado dessecado a planta perdeu consideravelmente em toxicidade quando guardada à temperatura ambiente por período acima de um mês. Os primeiros sintomas de intoxicação, nos experimentos que terminaram com a morte, tanto com a planta fresca como com a planta dessecada, apareceram ao redor de 24 horas após a ingestão da planta, e a evolução da intoxicação foi também ao redor de 24 horas; os principais sintomas observados foram anorexia, focinho seco, expiração com leves gemidos, apatia, leves tremores da cabeça e contrações musculares gerais do corpo. Os principais achados de necropsia foram lesões no fígado, cuja superfície de corte tinha aspecto de noz-moscada, e do tubo digestivo, em que havia ressecamento do conteúdo do folhoso e do intestino grosso, no último embebido de sangue. As principais alterações histopatológicas foram necrose e

lise de todo o parênquima hepático e degeneração hidrópico-vacuolar e esteatose de células epiteliais de túbulos uriníferos.

Estes dados sugerem que certas mortandades em bovinos que ocorrem no pantanal, município de Corumbá, e cuja característica é necrose maciça do parênquima hepático, devem ser causadas pela ingestão de *V. rubricaulis*.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, *Vernonia rubricaulis*, Compositae, intoxicação por planta, bovinos, patologia.

INTRODUÇÃO

No sul de Mato Grosso recebemos a informação de que na região do Morro do Pantanal, no município de Corumbá, ocorrem anualmente na época da seca mortandades em bovinos. Devido ao sistema de criação extensiva as informações sobre sintomatologia e evolução são muito vagas, porém são seguras de que as mortandades ocorrem somente em certas invernações, beirando o pantanal. Em fragmentos de órgãos de três bovinos que morreram, os quais foram remetidos a este Instituto⁴, constatamos lesões hepáticas acentuadas, sob forma de necrose difusa de todo o parênquima hepático acompanhada de congestão e hemorragias centrolobulares acentuadas.

Esses dados levam a suspeitar como causa dessas mortandades uma intoxicação por planta. Percorrendo diferentes inver-

¹ Aceito para publicação em 18 de maio de 1982.

Apresentado no XVIII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Camboriú, Santa Catarina, 18-23.10.1982.

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

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

⁴ Material remetido pelo Dr. Élio Purisco, Campo Grande, Mato Grosso.

nadas dessa região, não constatamos a presença de nenhuma planta hepatotóxica conhecida a nós. Porém levantamos suspeita sobre um subarbusto, posteriormente identificado como *Vernonia rubricaulis* Humboldt et Bonpland (fam. Compositae), cuja presença observamos somente nos pastos onde ocorrem as mortes. Para verificar essa possível causa das mortandades na região do Morro do Pantanal, foi realizado o presente estudo.

Revisão bibliográfica revela que dentro do gênero *Vernonia* somente uma espécie, *Vernonia mollissima* Don, foi demonstrada ser planta tóxica para bovinos (Döbereiner et al. 1976). São relatados na literatura ainda resultados experimentais negativos em ovinos com três outras espécies. Assim Theiler et al. (1923), em estudos sobre "gousiekte", fez uma série de experimentos, administrando por via oral diversas plantas a ovinos, entre elas *Vernonia monocephala* Harv., *Vernonia krausii* Sch. Bip. e *Vernonia natalensis* Sch. Bip., todas com resultados negativos; não indicam as quantidades administradas das plantas. Steyn (1935) administrou *V. krausii* Sch. Bip. (sin. *V. oligocephalus* Sch. Bip. ex Walp.) na fase de pós-floração por via oral a dois ovinos, a cada um o total de 1600 g da planta fresca e o total de 750 g da planta dessecada, durante um período de 13 dias, também com resultados negativos. Algumas espécies de *Vernonia* têm uso medicinal (Braga 1960, Watt & Breyer-Brandwijk 1962, Webb 1948).

MATERIAL E MÉTODOS

As partes aéreas de *Vernonia rubricaulis* H. et B.⁵ (Fig. 1 e 2) foram administradas por via oral em estado fresco (recém-colhidas), em diferentes doses, a três bovinos, e sob forma dessecada, a outros três, todos jovens desmamados com idade de 1 a 2 anos. O material vegetal administrado, constituído das partes aéreas superiores (10-20 cm) da planta em fase de formação de sementes, foi coletado no período de 6 a 9 de outubro de 1973 na Fazenda M.P., município de Corumbá. Parte do material foi dessecada à sombra e guardada à temperatura ambiente; foram feitos experimentos com esse material, sem-

⁵ Identificação botânica feita pela Dra. Graziela Maciel Barroso, Jardim Botânico do Rio de Janeiro, que também forneceu a descrição botânica através do trabalho de Cabrera, A.L. 1944. *Vernonias* argentinas (Compositae). De Darwiniana, San Isidro, B. Aires, 6(3):265-379.

Vernonia rubricaulis Humboldt et Bonpland.

Subarbusto de 80-200 cm de altura, com xilopódio grosso e ramos avermelhados, simples na parte inferior e muito ramificados na parte superior, glabros ou levemente tomentosos, folhosos até o ápice. Folhas lineares ou linear-lanceoladas, agudas no ápice e atenuadas na base, inteiras ou curtamente dentadas, mais ou menos revolutas na margem, glabras ou lanuginosas na parte ventral e densamente branco-tomentosas na parte dorsal, com 80-140 mm de comprimento, por 2-10 mm de largura. Capítulos sésseis ou muito curtamente pedicelados, dispostos em panículo de cincínios folhosos mais ou menos amplo; brácteas da inflorescência quase iguais às folhas. Invólucro hemisférico, com 6-7 mm de altura, por 10-12 mm de diâmetro; brácteas involucrais dispostas em 4-6 séries, lanceoladas, agudas, as interiores glabras e apertadas, as exteriores tomentosas e algo recurvadas. Flores numerosas purpúreas. Aquênios turbinados, costados, pubescentes, com 3,5-4 mm de comprimento. Papus branco, com uns 7 mm de comprimento.

pre na mesma dose, um, três e oito meses após sua coleta para verificar se a planta conserva sua toxicidade. Os bovinos submetidos à experimentação foram examinados antes e durante os experimentos, com tomada de temperatura, auscultação do coração, pulmão e rúmen. Em casos de morte foi feita imediatamente a necropsia, complementada por exames histopatológicos de fragmentos dos órgãos das cavidades torácica e abdominal, bem como do sistema nervoso central. Esses fragmentos foram fixados em formol a 10% e corados pela hematoxilina-eosina. Nos casos de alterações com vacuolização, fragmentos desses órgãos, após corte de congelação, foram tratados pelo Sudan III (Pallaske & Schmidel 1959).

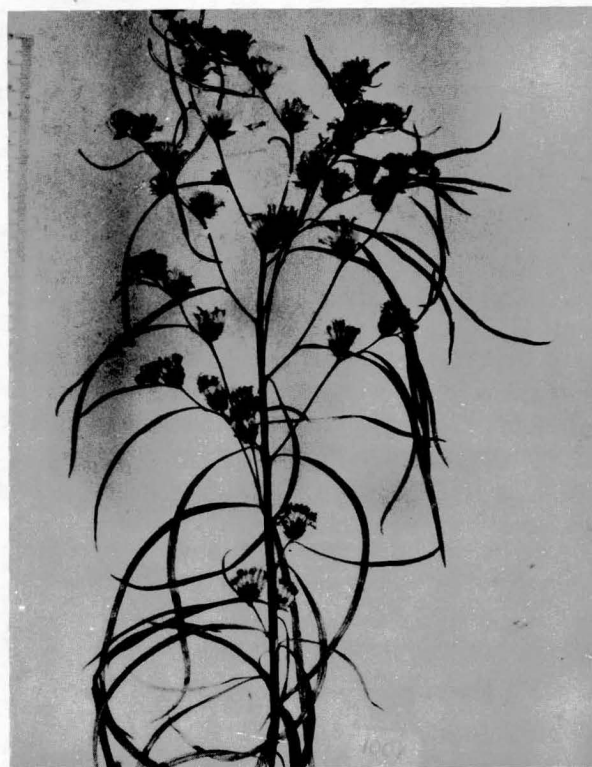


Fig. 1. *Vernonia rubricaulis* H. et B. no fim da época de floração e na fase de formação de sementes, na região do Morro do Pantanal, no município de Corumbá, Mato Grosso.

Fig. 2. *V. rubricaulis* coletada na região do Morro do Pantanal, mun. Corumbá.

RESULTADOS

Os principais dados sobre os experimentos com as partes aéreas de *Vernonia rubricaulis* constam dos Quadros 1 e 2. Detalhes sobre os experimentos em que os bovinos mostraram sintomas acentuados e morreram (Bov. 3501, 3505 e 3490) são fornecidos em seguida.

Bovino 3501, fêmea, mestiça, com 109 kg, recebeu em 6.9.73, das 9.25 às 11.20 h, 3270 g (30 g/kg) das partes aéreas superiores de *Vernonia rubricaulis* frescas, colhidas no dia anterior na Faz. M.P., município de Corumbá. No dia seguinte, 7.9.73, às 6.30 h, estava ruminando. Às 10.30 h não comeu o capim dado e assim continuou o dia todo com anorexia. Às 11.00 h foi visto parado, com focinho seco, com as pálpebras meio cerradas e engulindo em seco, de vez em quando. Às 13.00 h estava com lacrimejamento e com corrimento mucoso nasal; tinha o focinho seco. Às 14.05 h estava em posição esternal; temp. (T) 40,2, freq. card. (P) 72, freq. resp. (R) 44 por minuto, rúmen sem movimentos de bracejo. Às 16.30 h não se levantou ao ser tocado, gemia levemente na expiração, os globos oculares estavam levemente retraídos; apresentava leves tremores da cabeça, às vezes apoiando o queixo no chão. Às 17.30 h mantinha o pescoço em torcicolo; às 17.45 h levantou-se e ficou em pé, apático. Às 19.30 h foi encontrado em posição esterno-abdominal com a cabeça apoiada no costado direito e assim continuou até às 24.00 h. Em 8.9.73 às 6.15 h foi encontrado em decúbito lateral, calmo; morreu às 7.30 h. — **Achados de necropsia:** no epicárdio, presença de grande quantidade de petéquias. Superfície do fígado apresentou, sobre fundo amarelado-acinzentado, fino desenho arborizado vermelho e hemorragias subcapsulares com diâmetro de 2 a 3 mm em quantidade regular e, ao corte, nítido aspecto de noz-moscada, com exceção do bordo do lobo esquerdo, em que predominava o aspecto simplesmente amarelado. A parede da vesícula biliar teve leve edema. O conteúdo do folhoso estava um pouco ressequido. Mucosa do duodeno e parte inicial do jejuno com congestão difusa moderada, mucosa do ceco e intestino grosso coberta de sangue untuoso; conteúdo do intestino grosso levemente ressequido, o do reto bem ressequido e embebido de sangue e com presença de muco. **Exames histopatológicos** (SAP 21314) revelam, no fígado, necrose e lise de todo o parênquima hepático acompanhadas ou não de congestão e hemorragias centrolobulares, leves a acentuadas (Fig. 4 e 5); no rim, dilatação de túbulos uriníferos na córtex, e degeneração hidrópico-vacuolar difusa acentuada e esteatose difusa moderada das células epiteliais dos túbulos uriníferos na córtex e parte externa da medular; baço com presença de grande quantidade de polimorfonucleares ao redor dos folículos linfóides (Fig. 7); linfonodo com edema na medular.

Bovino 3505, macho, mestiço, com 109 kg, recebeu em 6.9.73, das 15.05 às 16.10 h, 2180 g (20 g/kg) das partes aéreas superiores de *V. rubricaulis* frescas, colhidas no dia anterior na Faz. M.P., município de Corumbá. No dia seguinte, 7.9.73, às 6.30 h estava ruminando. Na parte da manhã comeu o capim fornecido. Às 14.00 h estava com o focinho seco e às 17.30 h não comeu o capim. A partir das 19.30 h estava em posição esternal e não se levantou mais. Em 8.9.73 às 6.15 h foi encontrado na mesma posição com a cabeça encostada no lado direito. Às 7.30 h estava em decúbito lateral direito; T 37,0, P 80, R 16; expiração com gemidos leves; quieto. Às 10.10 h e 11.25 h o ritmo cardíaco estava irregular, o animal apresentou contrações gerais do corpo e às 11.38 h morreu. — **Achados de necropsia:** no epicárdio presença de pequena quantidade de petéquias. Baço túrgido. Superfície do fígado com coloração amarelada com arborização vermelha densa, ao corte com acentuado aspecto de noz-moscada, com exceção da porção esquerda do lobo esquerdo, que estava com coloração simplesmente amarelada. Parede da vesícula biliar com leve edema. Conteúdo do folhoso com ressecamento moderado. Mucosa do ceco e do intestino grosso coberto por sangue untuoso, com conteúdo ressequido e embebido por sangue e com presença de muco. Reto com conteúdo sob forma de bolotas ressequidas, externamente pretas, embebidas por sangue. — **Exames histopatológicos** (SAP 21319) revelam, no fígado,

necrose e lise de todo o parênquima hepático, acompanhadas ou não de congestão e hemorragias centrolobulares, leves a acentuadas; no rim, dilatação de túbulos uriníferos na córtex e na medular, degeneração hidrópico-vacuolar difusa acentuada e esteatose difusa leve das células epiteliais da córtex (Fig. 6); baço com presença de muitos polimorfonucleares ao redor dos folículos linfóides.

Bovino 3490, fêmea, mestiça, com 108 kg, recebeu em 9.10.73, entre 10.40 e 14.15 h, 1080 g (10 g/kg) das partes aéreas superiores de *V. rubricaulis* dessecada, coletada em 2 e 5.9.73 na Faz. M.P., município de Corumbá; esta quantidade da planta corresponde a 30 g/kg da planta fresca. No dia seguinte à administração, 10.10.73, a partir das 10.00 h notou-se anorexia; o animal estava com focinho seco. Às 13.00 h eliminou fezes um pouco ressequidas com presença de pequena quantidade de muco. Às 16.00 h, quando tocado, apresentou às vezes leve desequilíbrio no andar. T 38,8, P 96, R 20; rúmen com 2 bracejos em cada 2 minutos, de intensidade normal. Globos oculares levemente retraídos. Às 20.00 h estava deitado em posição esterno-abdominal, às 23.00 h com o pescoço em torcicolo. No dia subsequente, em 11.10.73, às 7.00 h, T 37,1, P 96, R 24, rúmen com movimentos de bracejos quase normais, 3 em cada 2 minutos. Globos oculares levemente retraídos, focinho seco. Eliminou pequena quantidade de fezes de aspecto normal. Logo em seguida ficou em posição esternal e às 9.40 h deitou-se em decúbito lateral. Às 10.25 h, T 37,0, P 84, com ritmo um pouco irregular, R 12, rúmen com 1 movimento de bracejo em cada 2 minutos. Às 13.55 h o ritmo cardíaco era muito irregular, em média 100 batimentos por minuto, a freq. resp. era 12 por min., mas também irregular; na expiração o animal gemia e berrava. O animal apresentou contrações musculares gerais com fracos movimentos de pedalagem dos membros posteriores. Às 14.05 h as contrações se tornaram mais fortes, mas intermitentes, com movimentos rápidos de pedalagem das mãos e das pernas, às vezes sob forma de coices; berros frequentes, freq. card. 200 por min., fortes. Às 14.22 h o animal morreu. — **Achados de necropsia:** no epicárdio pequena quantidade de petéquias, no endocárdio do ventrículo esquerdo numerosas equimoses. Superfície do fígado apresentou, sobre um fundo amarelo-acinzentado, fina rede sob forma de arborização de coloração vermelha e pequena quantidade de hemorragias subcapsulares com diâmetro de 1 a 2 mm (Fig. 3), e ao corte as mesmas alterações, dando ao parênquima hepático aspecto que lembrava um pouco a noz-moscada, com exceção da porção esquerda do lobo esquerdo, que apresentava cor amarelo-acinzentada sem a rede vermelha. O conteúdo do folhoso estava com ressecamento moderado. No ceco e cólon o conteúdo era ressequido e embebido por sangue enegrecido. Conteúdo do reto ressequido sob forma de bolotas envolvidas por muco espesso. — **Exames histopatológicos** (SAP 21335) revelam, no fígado, necrose e sobretudo lise de todo o parênquima com

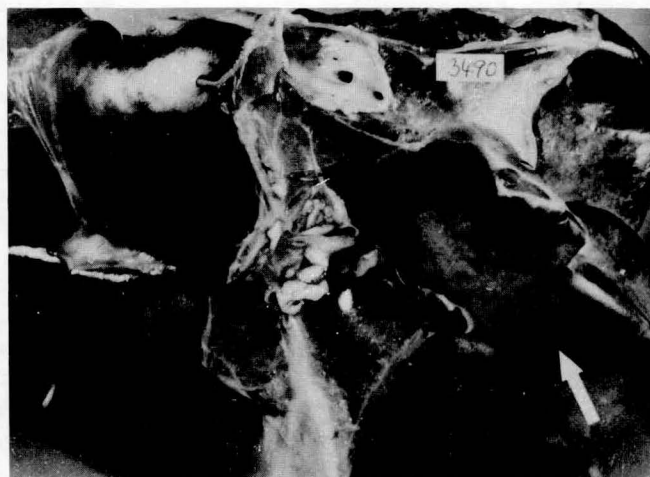
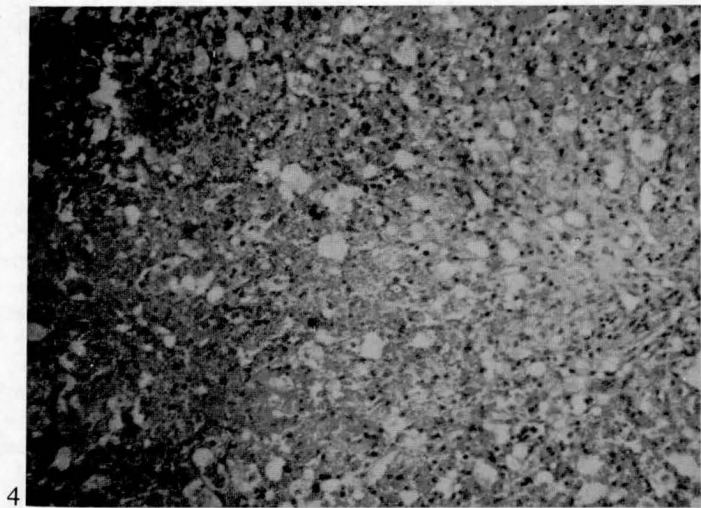
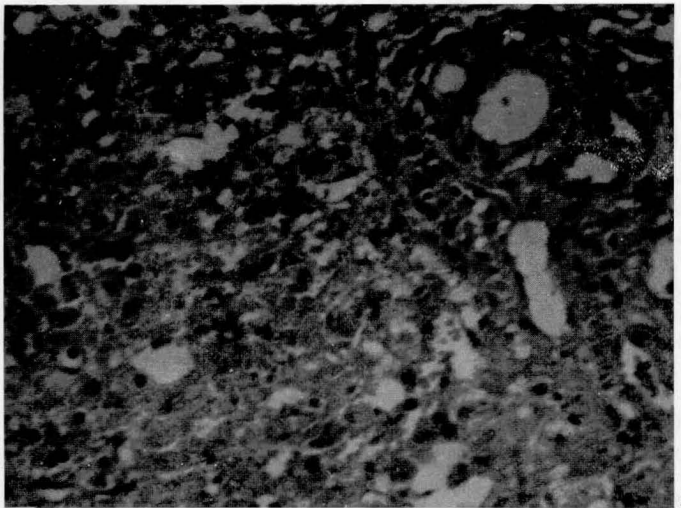


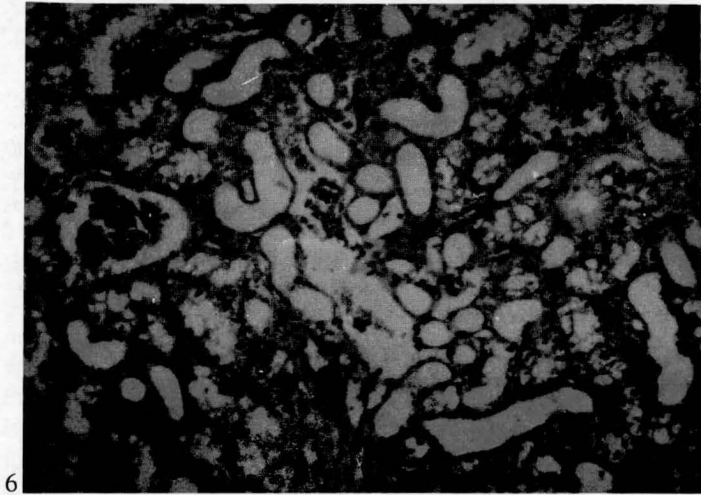
Fig. 3. Face visceral do fígado do bovino 3490 morto pela intoxicação experimental por *V. rubricaulis*. Observam-se hemorragias subcapsulares e arborização fina escura sobre fundo claro (seta).



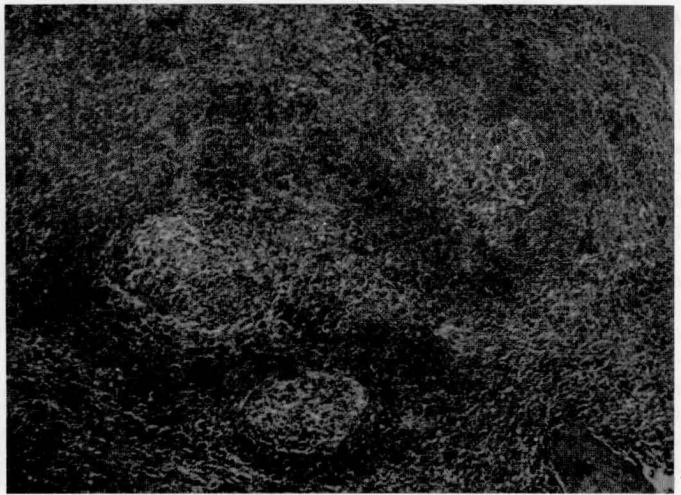
4



5



6



7

Fig. 4. Necrose e lise de todo o parênquima hepático na intoxicação experimental por *V. rubricaulis* (Bov. 3501). H.-E., Obj. 10.

Fig. 5. Maior aumento da lesão hepática (Bov. 3501). H.-E., Obj. 25.

Fig. 6. Dilatação de túbulos uriníferos e degeneração hidrópico-vacuolar na córtex renal de bovino na intoxicação experimental por *V. rubricaulis* (Bov. 3505). H.-E., Obj. 10.

Fig. 7. Presença de grande número de polimorfonucleares ao redor dos folículos linfóides no baço na intoxicação experimental por *V. rubricaulis* (Bov. 3501). H.-E., Obj. 4.

Quadro 1. Experimentos em bovinos com *Vernonia rubricaulis* Humboldt et Bonpland em estado verde fresco

Bovino		Planta administrada					Sintomas			
Nº (mat. reg. SAP)	Peso (kg)	Data da coleta	Local da coleta	Data do experimento	Quantidade	Dose (g/kg)	Intensidade	Início após começo da administração da planta	Duração	Morte após administração da planta
3501 (21314)	109	5.9.73	Faz. Morro do Pantanal, mun. Corumbá	6.9.73	3270 g	30	Morreu	25h	21h	46h
3505 (21319)	109	"	"	"	2180 g	20	Morreu	23h	21h30min	44h30min
3512	100	"	"	"	1000 g	10	Sem sintomas	—	—	—

Quadro 2. Experimentos em bovinos com *Vernonia rubricaulis* Humboldt et Bonpland dessecada^(a)

Bovino		Planta administrada								Sintomas				
Nº (mat. reg. SAP)	Peso (kg)	Data da coleta	Local da coleta	Data do experimento	Planta dessecada		Correspondência com a planta recém-colhida		Tempo decorrido desde a coleta da planta	Intensidade	Início após começo da administração da planta	Duração	Recuperado após ingestão da planta	Morte após administração da planta
					Quantidade (g)	Dose (g/kg)	Quantidade (g)	Dose (g/kg)						
3490 (21335)	108	2.9.73	Faz. Morro do Pantanal, mun. Corumbá	9.10.73	1080	10	3240	30	1 mês	Morreu	23h	28h30min	—	51h30min
3494	110	"	"	12.12.73	1100	10	3300	30	3 meses 1 sem.	Leves sintomas, consistindo em leve anorexia e fezes ressequidas durante 3 dias	24h	3 dias	4 dias	—
3551	77	"	"	30.4.74	690	9	2070	27	8 meses	Leves sintomas, consistindo em anorexia acentuada durante 1 dia	24h	1 dia	2 dias	—

(a) 1 kg da planta recém-colhida corresponde a 330 g da planta dessecada (relação planta recém-colhida/dessecada, 3:1).

moderada congestão e hemorragias de distribuição irregular; no rim, as células epiteliais de grande parte dos túbulos uriníferos da córtex renal, especialmente dos raios medulares, apresentam-se com vacuolização até lise, e adicionalmente há leve esteatose; baço com congestão regular; linfonodo com edema da medular e nos folículos; pulmão com congestão moderada.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Pela administração das partes aéreas de *Vernonia rubricaulis* obtivemos um quadro de intoxicação aguda. Enquanto na dose de 10 g/kg da planta fresca recém-colhida o animal não mostrou quaisquer sintomas de intoxicação, nas doses de 20 e 30 g/kg os animais adoeceram e morreram. Pela dessecação a planta não perdeu de imediato sua toxicidade; se, porém, guardada à temperatura ambiente por período acima de um mês, esta diminuiu muito. Os primeiros sintomas, tanto nos experimentos com a planta fresca como com a planta dessecada, apareceram, nos experimentos que terminaram com a morte dos animais, ao redor de 24 horas após a ingestão da planta, e a evolução até a morte foi também ao redor de um dia. Os primeiros sintomas observados, tanto nos experimentos com a planta fresca como com a planta dessecada, foram anorexia, focinho seco, expiração com gemidos, apatia, leves sintomas nervosos como andar um pouco desequilibrado, tremores da cabeça e contrações musculares gerais do corpo. Os principais achados de necropsia foram lesões hepáticas. A superfície do fígado tinha coloração amarelada com desenho sob forma de arborização vermelha e algumas hemorragias subcapsulares com diâmetro de 1 a 2 mm, e ao corte aspecto acentuado de noz-moscada, com exceção da porção esquerda do lobo esquerdo que tinha coloração simplesmente amarelada. A parede da vesícula biliar apresentou leve edema. Havia ressecamento leve a moderado do conteúdo do folhoso. A mucosa do intestino grosso estava coberta por sangue untuoso, e o conteúdo deste, ressequido e embebido por sangue. No epicárdio havia petéquias. As principais alterações histopatológicas foram necrose e lise de todo o parênquima hepático, acompanhada ou não de congestão e hemorragias centrolobulares leves a acen-

tuadas. Havia ainda degeneração hidrópico-vacuolar e esteatose de células epiteliais de túbulos uriníferos e no baço presença de grande quantidade de polimorfonucleares ao redor dos folículos linfóides.

Considerando o conjunto dos dados, isto é, que as lesões principais nas mortandades são de necrose do parênquima hepático, que a incidência das mortandades coincide com a ocorrência de *Vernonia rubricaulis* em determinadas invernações e que nessas invernações não ocorre outra planta hepatotóxica conhecida, pode-se concluir que as mortandades, observadas no pantanal do município de Corumbá, caracterizadas por necrose maciça do parênquima hepático, devem ser causadas pela ingestão de *V. rubricaulis*.

Agradecimentos.— Agradecemos à Dra. Graziela Maciel Barroso, Jardim Botânico do Rio de Janeiro, pela identificação e descrição botânica da planta.

REFERÊNCIAS

- Braga R. 1960. Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará, 2ª ed. Imprensa Oficial, Fortaleza, Ceará.
- Döbereiner J., Tokarnia C.H. & Purisco E. 1976. *Vernonia mollissima*, planta tóxica responsável por mortandades de bovinos no sul de Mato Grosso. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet. 11:49-58.
- Pallaske G. & Schmidel R. 1959. Pathologisch-histologische Technik. Paul Parey, Berlin.
- Steyn D.G. 1935. Recent investigations into the toxicity of known and unknown poisonous plants in the Union of South Africa. Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Ind. 4(2):399-415.
- Theiler A., Du Toit P.J. & Mitchell D.T. 1923. Gousiekte in sheep. 9th and 10th Rep. Dir.Vet.Educ. Res., Union of South Africa, p. 9-105, 7 fig.
- 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. nº 232, Council for Scientific and Industrial Research, Melbourne.

COMPORTAMENTO BIOQUÍMICO E COMPOSIÇÃO ANTIGÊNICA DE CULTURAS DE *Salmonella gallinarum* e *S. pullorum* ISOLADAS NO BRASIL¹

CHARLOTTE H. LANGENEGGER², JEROME LANGENEGGER² E LÍVIA M.G. ARAÚJO²

ABSTRACT.- Langenegger C.H., Langenegger J. & Araújo L.M.G. 1982. [Biochemical behavior and antigenic composition of *Salmonella gallinarum* and *S. pullorum* cultures isolated in Brazil.] Comportamento bioquímico e composição antigênica de culturas de *Salmonella gallinarum* e *S. pullorum* isoladas no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 2(4):149-154. Embrapa - Patologia Animal, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23460, Brazil.

The biochemical behavior of 39 cultures of *Salmonella gallinarum* and *S. pullorum*, isolated from natural outbreaks in birds, revealed that 14 (35.9%) possessed characteristics of *S. gallinarum*, and 25 (64.1%) of *S. pullorum*. Screening by the ammonium sulfate precipitation test did not reveal the presence of "variant" cultures. The antigenic structure of the 39 cultures was characterized by a high concentration of specific factor 9, absence or only traces of partial factor 12₂ and moderate quantities of partial factor 12₃, indicating that all 39 cultures were of the standard type. The uniformity of the antigenic composition and small quantitative variation of the antigenic factors of each of the cultures, indicate that the outbreaks of pullorum disease and fowl typhoid, occurring in the last three years, most likely originated from native strains existing in Brazil for several years.

INDEX TERMS: *Salmonella gallinarum*, *S. pullorum*, antigenic composition, biochemical behavior, occurrence in Brazil.

SINOPSE.- O comportamento bioquímico de 39 culturas de *Salmonella gallinarum* e *S. pullorum*, isoladas de focos naturais em aves, revelou que 14 (35,9%) apresentaram as características de *S. gallinarum* e 25 (64,1%) de *S. pullorum*. A triagem pelo teste de precipitação pelo sulfato de amônia não acusou a presença de culturas "variantes" entre elas. A estrutura antigênica das 39 culturas caracterizou-se pela alta concentração do fator específico 9, ausência ou apenas traços do fator parcial 12₂ e moderada quantidade do fator parcial 12₃, mostrando tratar-se tão somente de culturas "padrões". A uniformidade da fórmula antigênica e a pouca variação quantitativa dos fatores antigênicos de cada uma das culturas permitem supor que os focos de pulorose e de tifo aviário, ocorridos nos últimos três anos, procedem de culturas autóctones já existentes no país há muitos anos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Salmonella gallinarum* e *S. pullorum*, composição antigênica, comportamento bioquímico, ocorrência no Brasil.

INTRODUÇÃO

O controle da pulorose e do tifo aviário, em galinhas e perus, vem sendo feito, satisfatoriamente, através da soro-aglutinação rápida em placa com sangue total e antígeno corado, em muitos países; inclusive no Brasil. Este método de diagnóstico das infecções por *Salmonella gallinarum* e *S. pullorum*, bem como a clássica soro-aglutinação lenta em tubos ou os mais modernos testes de microaglutinação e de microantiglobulina (Williams & Whittemore 1973, 1979, Silva et al. 1978) não exclui, no entanto, a interferência de reações paraespecíficas desenvolvidas por infecções como as de *S. typhimurium* e outras salmonelas que têm, em comum, um ou mais fatores antigênicos de *S. gallinarum* e *S. pullorum* (Sanders et al. 1943, Hinshaw & McNeil 1944, Monteverde & Simeone 1944, Wilson 1947, July et al. 1969, Izzi et al. 1974, Silva & Hipólito 1977, 1978) nem de reações cruzadas inespecíficas causadas por várias outras bactérias (Garrard et al. 1946, 1947, Carpenter et al. 1947, Burton & Garrard 1948, July & Hipólito 1970, Monteverde et al. 1971, Terzolo et al. 1977).

A existência, embora em pequeno número, das chamadas formas "variantes" de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, nas quais a variação quantitativa da composição antigênica (Kauffmann 1941, Edwards & Bruner 1946, Wright & Edwards 1948, Roots 1952, Kusters 1965a) pode ser tão acentuada a ponto de perder a especificidade para os soros das salmonelas

¹ Aceito para publicação em 31 de maio de 1982.

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

“padrões” (Younie 1941, 1942, Byrne 1943, Gwatkin 1945a, Edwards et al. 1948, Snoeyenbos et al. 1950, Roots 1952), forçou a inclusão de culturas “variantes” como componentes do antígeno, que passou a ser designado como polivalente e é assim usado na rotina de diagnóstico da pulorose e do tifo aviário em vários países (Gwatkin 1945b, Papageorgiou et al. 1968).

Se, por um lado, este antígeno polivalente assegura a detecção de infecções por possíveis formas “variantes” de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, por outro lado revela maiores índices de reações cruzadas inespecíficas do que o antígeno elaborado com culturas providas da composição antigênica padrão (Geissler & Kusters 1964, Papageorgiou et al. 1968, July & Hipólito 1970, Silva et al. 1978).

O uso do antígeno polivalente deveria ser recomendado apenas nos países em que, comprovadamente, ocorre a infecção por formas “variantes” de *S. gallinarum* e *S. pullorum*. No Brasil, há mais de 25 anos passados, Reis e Nobrega (1956) não conseguiram demonstrar a existência de formas “variantes”.

Diante desta problemática e na ausência de outros dados bibliográficos que mostrem a ocorrência de formas “variantes” de *S. gallinarum* e *S. pullorum* no Brasil, procurou-se examinar o comportamento bioquímico e a composição antigênica de culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum* isolados de focos de pulorose e de tifo aviário, ocorridos em vários Estados, nos últimos anos, com o intuito de comprovar ou excluir a ocorrência destas formas “variantes”.

MATERIAL E MÉTODOS

Culturas de Salmonella gallinarum e S. pullorum. Foram examinadas 39 culturas isoladas de focos de pulorose e de tifo aviário de mortandades de pintos, de galinhas portadoras e de codornas jovens, procedentes de granjas de reprodução e de criações comerciais dos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Pernambuco. Cada cultura procedia de um foco, o que não exclui a possibilidade de que vários focos tenham tido origem em um mesmo incubatório. As culturas foram isoladas nos últimos três anos e mantidas em meio à base de ovo até a presente data. Quinze das 39 culturas foram isoladas e identificadas por outros laboratórios.³ Foram utilizadas como controles a cultura padrão TI-184/64 e a “variante” Hen 296.⁴

Diferenciação bioquímica. A variação no comportamento bioquímico entre as amostras de *S. gallinarum* e as de *S. pullorum* foi determinada pelos testes de fermentação da glucose, da ramnose, da maltose e do dulcitol, e de utilização do D-tartarato e do mucato, bem como pelos testes da ornitina descarboxilase e da cisteína-gelatina preconizados por Trabulsi e Edwards (Cit. Edwards & Ewing 1962).

³ Cedidas pelo Departamento de Bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro e pelo Laboratório de Biologia Animal, PESAGRO, Niterói, Rio de Janeiro.

⁴ Procedentes do Institut fuer Veterinaermedizin des Bundesgesundheitsamtes, Tielallee 88-92, D-1000 Berlin 33.

Teste de precipitação pelo sulfato de amônia. A diferenciação entre culturas “padrões” e “variantes” de *S. gallinarum* e *S. pullorum* pela floculação relativa e sedimentação em solução aquosa de sulfato de amônia (Williams 1953a,b, Williams & Harris 1955), consistiu em: a) suspender duas alças (diâmetro 4 mm) cheias de cultura recente da salmonela a testar em 0,5 ml de salina formolada a 1%, contida num tubo de centrifugação 15 x 100 mm; b) após aquecimento da suspensão durante 3 minutos em vapor fluente, adicionar 8 ml da solução de sulfato de amônia (330 g em água destilada até completar um litro) e misturar; c) incubar a suspensão em banho-maria a 55°C durante 5 minutos e depois fazer a leitura contra fundo escuro, para avaliar a floculação; d) em seguida, centrifugar a 2.400 rpm durante 15 minutos e proceder à interpretação, que é a seguinte:

- culturas “padrões” de *S. gallinarum* e *S. pullorum* apresentam nítida floculação e, após centrifugação, acentuado sedimento e sobrenadante claro;
- culturas “variantes” mostram constante e homogênea turvação e apenas traços de sedimentos;
- culturas “intermediárias” se caracterizam por moderada turvação e pequeno depósito.

Preparo do antígeno e execução da soro-aglutinação rápida em lâmina. O antígeno consistia na suspensão densa, numa gota de salina, das culturas de 24 horas em ágar simples de cada salmonela a ser testada.

A soro-aglutinação rápida era feita misturando-se um alça carregada dessa suspensão com uma gota de anti-soro conhecido sobre a lâmina. Após 10 segundos de movimentos imprimidos à mistura, fazia-se a leitura, cuja interpretação obedecia ao seguinte critério:

- +++ aglutinação espontânea com grandes grumos;
- ++ aglutinação espontânea com finos grumos;
- + reação retardada com finos grumos;
- sem aglutinação.

Preparo do antígeno para prova lenta. Segundo o método de White, cada uma das amostras de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, cultivadas em ágar simples, era suspensa em álcool absoluto e aquecido a 60°C em BM durante uma hora. Após a centrifugação (2.400 rpm durante 30 minutos), o álcool sobrenadante era decantado e as bactérias ressuspensas em salina fenicada a 0,5%. A densidade final do antígeno era ajustada ao tubo 3 da escala de McFarland.

Preparo de soro “0” anti-fator 1. O soro “0” anti-fator 1 foi obtido em coelho, pela inoculação intravenosa, seriada, da cultura de 24 horas, em caldo simples, de *S. senftenberg* (1, 3, 19), após o aquecimento a 100°C durante 2,5 horas, e formolada a 0,3%. O título do soro obtido foi de 1:2560 que, diluído a 1:5, era usado para a aglutinação rápida em lâmina.

Preparo do soro “0” anti-fator 9. Foi obtido, por inoculação intravenosa, seriada, em coelho, de uma cultura padrão de *S. gallinarum* (1, 9, 12), de 24 horas, em caldo simples, e

formolada a 0,3%. A absorção dos anti-fatores 1 e 12 deste soro foi feita com as culturas de *S. senftenberg* (1, 3, 19) e *S. paratyphi* A var. durazzo (2, 12₁, 12₃) e *S. typhimurium* var. copenhagen (1, 4, 12₁, 12₂), o que permitiu obter o soro monovalente "0" com título final de 1:2560. Para o uso na aglutinação rápida em lâmina foi diluído a 1:5.

Preparo do soro "0" anti-fator 12₂. Foi preparado, pela inoculação intravenosa, seriada, em coelho, de cultura de *S. reading* (4, 5, 12₁, 12₂) de 24 horas, em caldo simples, aquecida a 100°C durante 2,5 horas e formolada a 0,3%. A absorção do anti-fator 12₁ foi feita com a cultura de *S. paratyphi* A var. durazzo (2, 12₁, 12₃). Os anti-fatores 4 e 5 não necessitam ser absorvidos porque não interferem no objetivo do presente trabalho. A presença e a titulação do anti-fator 12₂ foram determinadas através aglutinação rápida em lâmina e lenta em tubos com antígeno preparado com a amostra "variante" Hen 296. O soro revelou título de 1:640.

Preparo do soro "O" anti-fator 12₃. Este soro foi preparado pela inoculação intravenosa, seriada, da cultura de *S. typhi* T2 (9, 12₁, 12₃) em coelho. O inóculo consistiu na cultura de 24 horas em caldo simples aquecida a 100°C durante 2,5 horas, e formolada a 0,3%. A absorção do anti-fator 9 foi feita com *S. strasbourg* (9, 46) e do anti-fator parcial 12₁ com a *S. reading* (4, 5, 12₁, 12₂). O título do soro permaneceu com título final de 1:320.

RESULTADOS

As 39 culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, submetidas ao exame bacteriológico, revelaram comportamento bioquímico compatível com os perfis preconizados por Trabulsi e Edwards (Cit. Edwards & Ewing 1962), sendo caracterizadas 14 (35,9%) culturas de *S. gallinarum* e 25 (64,1%) de *S. pullorum*, conforme mostra o Quadro 1.

A diferenciação entre as culturas "padrões" e das formas "variantes" de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, em cuja estrutura antigênica somática sobressai a alta concentração do fator parcial 122, foi efetuada através do teste de precipitação pelo sulfato de amônia (Williams 1953a,b, Williams & Harris 1955) e pela determinação qualitativa e quantitativa da estrutura antigênica através da soro-aglutinação rápida e lenta (Wright & Edwards 1948, Kusters 1965a,b).

No teste de precipitação pelo sulfato de amônia, as 39 culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, isoladas de focos de tifo aviário e de pulorose de galinhas, pintos e codornas de várias partes do Brasil, bem como a testemunha padrão TI 184/64, apresentaram nítida floculação e, após centrifugação, mostraram grande quantidade de sedimento com sobrenadante transparente. Em contraposição, a cultura "variante" Hen 296, servindo de testemunha, permaneceu turva e praticamente sem sinal de sedimento, após a centrifugação. Este resultado mostra que nenhuma das 39 culturas apresentou

as características da forma "variante" ou "intermediária" (Quadro 2).

Os testes sorológicos para determinar, qualitativa e quantitativamente, a estrutura antigênica das 39 culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, visaram os seguintes fatores antigênicos:

a) fator 1: a presença do fator 1, determinada através do soro "0" anti-*S. senftenberg* (1, 3, 19) frente ao antígeno das 39 culturas, em testes de aglutinação rápida e lenta, não foi assinalada, a não ser na cultura "variante" Hen 296 testemunha, cujos resultados estão resumidos no Quadro 3;

b) fator 9: a presença e concentração do fator 9 foram avaliados pela aglutinação rápida e lenta com soro "0"

Quadro 1. Diferenciação bioquímica das 14 culturas de *Salmonella gallinarum* e das 25 de *S. pullorum*

Provas	Nº de amostras	Resultados das provas ^(a)		
		<i>S. gallinarum</i>	<i>S. pullorum</i>	
Glicose (gas)	39	-14	+ 6	-19
Ramnose	39	+14	+23 ^{1d} + 2 ^{2d}	
Maltose	39	+13 ^{1d} + 1 ^{2d}	+ 7 ^{4-6d}	-18
Dulcitol	39	+14		-25
D-tartarato	39	+14		-25
Mucato	39	+14		-25
Ornitina descarboxilase	39	-14	+25	
Cisteína-gelatina	39	+14		-25

(a)

Os índices significam dias até completar a reação.

Quadro 2. Resultado do teste de precipitação com sulfato de amônia das 39 culturas de *Salmonella gallinarum* e *S. pullorum*

Culturas	Floculação, grande sedimento, coluna clara (padrão)	Traços de floculação, moderada turvação, pequeno sedimento (intermediário)	Turvação persistente homogênea, traços de sedimento (variante)
39	39	-	-
TI 184 ^(a)	1	-	-
Hen 296 ^(b)	-	-	1

(a)

Testemunha padrão.

(b) Testemunha "variante".

anti-fator 9; os resultados das 39 culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, bem como das duas culturas testemunhas, acusaram alta concentração do fator 9, como mostra o Quadro 4;

c) fator parcial 12₂: a avaliação sobre presença e concentração do fator parcial 12₂ nas culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, revelou que todas as 39 culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum* apresentavam ausência ou apenas traços do fator parcial 12₂, da mesma forma como a testemunha TI 184/64; no entanto, a amostra testemunha “variante” Hen 296 revelou alta concentração, com título de 1:640, de acordo com os dados apresentados no Quadro 5;

d) fator parcial 12₃: a presença e concentração do fator parcial 12₃, determinadas nas 39 culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum* como nas duas testemunhas “padrão” e “variante” revelaram variações de títulos entre 1:80 e 1:320, na soroprecipitação lenta. A testemunha padrão TI 184/64 acusou título na diluição de 1:160 e a testemunha “variante” Hen 296 na diluição de 1:80 (Quadro 6).

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A análise do comportamento bioquímico das culturas de *Salmonella gallinarum* e *S. pullorum* sempre é recomendada, não só como contribuição para a identificação, mas também para estabelecer a diferenciação entre agentes etiológicos da pulrose e do tifo aviário, porque estas duas formas de doença

Quadro 3. Resultado da soro-aglutinação rápida e lenta das 39 culturas e duas testemunhas com soro “0” anti-fator 1

Culturas	Provas e títulos						
	Reação da prova rápida				Título da prova lenta		
	Neg.	+	++	+++	Neg.	1:10	1:20
39	39	—	—	—	39	—	—
TI 184/64	1	—	—	—	1	—	—
Hen 296	—	1	—	—	—	1	1 ^(a)
(a)	Aglutinação parcial.						

Quadro 4. Resultado da soro-aglutinação rápida e lenta das 39 culturas e duas testemunhas com soro “0” anti-fator 9

Culturas	Provas e títulos					
	Reação da prova rápida				Título da prova lenta	
	Neg.	+	++	+++	1:1280	1:2560
39	—	—	—	39	9	30
TI 184/64	—	—	—	1	—	1
Hen 296	—	—	—	1	1	—

têm características epizootológicas próprias e o controle dos surtos requer medidas diferentes.

A prevalência destas duas salmoneloses parece manter-se, em nosso meio, na proporção de 1:3, aproximadamente. Reis e Nobrega (1956), analisando 1.769 achados de necropsia de aves até 1936, encontraram 1,5% de casos de tifo aviário e 3,2% de pulrose; em 1956, avaliando 17.753 exames, verificaram que 1,8 eram tifo aviário e 4,3% de pulrose. Em 1977, Rodrigues e Hofer (1977), diferenciando bioquimicamente 77 culturas, demonstraram que 33,7% eram *S. gallinarum* e 66,2% *S. pullorum*. Também no presente trabalho os 39 focos estudados revelaram que 35,9% eram causados por tifo aviário e 64,1% por pulrose, guardando quase a mesma proporção.

A determinação da fórmula antigênica das culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum* é indicada, periodicamente, como medida de vigilância sanitária, pois permite adotar os procedimentos adequados ao diagnóstico e às medidas de controle da doença. Embora ainda sejam desconhecidas as causas que provocam as alterações da estrutura antigênica, a ponto de interferir na especificidade do diagnóstico sorológico (Younie 1941, Sroeyenbos et al. 1950, Roots 1952), estas variações poderiam surgir nas culturas autóctones, ou então, poderiam ser introduzidas “variantes” de *S. gallinarum* e *S. pullorum* de outros países.

A diferenciação entre culturas “padrões”, “intermediárias” ou “variantes” de *S. gallinarum* e *S. pullorum* pode ser feita facilmente, como meio de triagem, através do teste de precipitação pelo sulfato de amônia preconizado por Williams (1953a,b), em qualquer laboratório de diagnóstico. O resul-

Quadro 5. Resultado da pesquisa do fator parcial 12₂ nas culturas de *Salmonella gallinarum* e *S. pullorum* e duas testemunhas

Culturas	Provas e títulos						
	Reação da prova rápida				Título da prova lenta		
	Neg.	+	++	+++	Neg.	1:10	1:20 1:640
39	16	23	—	—	35	4	—
TI 184/64	—	1	—	—	—	1	—
Hen 296	—	—	—	1	—	—	1

Quadro 6. Resultado da determinação da presença e concentração do fator parcial 12₃ nas 39 culturas de *Salmonella gallinarum* e *S. pullorum* e duas testemunhas

Culturas	Provas e títulos					
	Reação da prova rápida				Título da prova lenta	
	Neg.	+	++	+++	1:80	1:160 1:320
39	—	12	27	—	17	18 4
TI 184/64	—	—	1	—	—	1
Hen 296	—	—	1	—	1	—

tado do teste das 39 culturas e das duas testemunhas coincidiu com o dos exames sorológicos quanto à variação da estrutura antigênica.

A determinação sorológica qualitativa e quantitativa dos fatores antigênicos, tarefa de laboratório especializado em salmonelas, requer a elaboração dos soros somáticos anti-fatores 1 e 9 e dos subfatores 12₂ e 12₃, estes últimos não disponíveis comercialmente.

A importância do fator 1 está relacionada com reações cruzadas inespecíficas heterólogas e veio à tona na década de 1960 com as pesquisas de Geissler e Kusters (1964) e Kusters (1965a,b,c). Kusters (1965a), examinando 31 culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum* isoladas na Alemanha Ocidental, verificou que 28 continham o fator 1 com títulos variando de 1:40 a 1:1280 e apenas 3 culturas não acusaram a presença deste fator. Na presente pesquisa, nenhuma das 39 culturas revelou a presença do fator 1 em quantidades detectáveis, o mesmo acontecendo com a testemunha TI 184/64. A testemunha "variante" Hen 296 acusou título de 1:10.

O fator específico 9, presente em alta concentração em todas as 39 culturas, revelou títulos finais de 1:1280 e 1:2560, muito uniformes, variando apenas de uma diluição. Kusters (1965a) observou maior variação nos títulos. O maior título encontrado foi na amostra TI 184/64, que figura neste trabalho com a testemunha "padrão". O menor título foi fornecido pela "variante Holl" com quatro diluições a menos.

O fator parcial 12₂ estava ausente, ou presente em quantidades bem reduzidas, enquanto a testemunha "variante" Hen 296 apresentou título de 1:640. Este resultado tornou evidente a não existência de formas "variantes", nem "intermediárias" entre as 39 culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum* examinadas, concordando com o teste de precipitação pelo sulfato de amônia.

O fator parcial 12₃ marcou sua presença com títulos médios variando até 1:320, dentro das características esperadas.

O resultado desta pesquisa revelou que as 39 culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, isoladas de focos naturais de pulrose e tifo aviário, se comportaram como amostras padrões, contendo alta concentração do fator antigênico específico 9, ausência do fator 1, ausência ou traços do fator parcial 12₂ e moderada quantidade do fator 12₃. Estas características mostram que as culturas recentemente isoladas são semelhantes às examinadas por Reis e Nobrega (1956) há mais de 25 anos. Por outro lado, a uniformidade da estrutura antigênica e a pequena variação dos títulos dos fatores antigênicos entre si, comparadas com os resultados descritos por Kusters (1965a), permitem supor que as 39 amostras são oriundas de culturas autóctones presentes no país já há muitos anos.

Nestas circunstâncias, recomenda-se utilizar, tão somente, antígeno elaborado com culturas "padrões" ricas no fator 9 e que tenham, em reduzida quantidade o fator 12, com ausência ou apenas traços do fator parcial 12₂.

Com esta medida não se pode evitar a ocorrência de reações paraespecíficas, mas é possível reduzir ao mínimo as reações inespecíficas heterólogas que ocorrem, mais freqüentemente, com o uso do antígeno polivalente de cuja composição parti-

cipam culturas "variantes" de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, ricas no fator parcial 12₂.

Nos últimos anos, foi introduzido no Brasil o antígeno polivalente, cujo uso, sem o necessário esclarecimento, trouxe dificuldades na interpretação das reações sorológicas por causa do elevado número de reações inespecíficas. Esta situação agravou-se ainda mais porque não havia, em número suficiente, facilidades laboratoriais para confirmar ou excluir, bacteriologicamente, as infecções por *S. gallinarum* e *S. pullorum*, nem condições para reconhecer as formas "variantes".

Agradecimentos. Os autores agradecem ao Prof. Dr. Ernesto Hofer, Chefe do Departamento de Bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz, da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, e ao Dr. Geraldo Manhães, Chefe do Laboratório de Biologia Animal, PESAGRO, Niterói, pelo fornecimento de culturas de *Salmonella gallinarum* e *S. pullorum* isoladas e identificadas recentemente de focos de salmoneloses de aves.

Agradecem, igualmente, ao Prof. Dr. O. Pietzsch, Diretor do Institut fuer Veterinaermedizin des Bundesgesundheitsamtes Berlin, pela valiosa cessão de antígenos e culturas padrões de *Salmonella gallinarum* e *S. pullorum*.

REFERÊNCIAS

- Burton W.H. & Garrard E.H. 1948. Non-pullorum agglutination reactions. IV. Reactions with pullorum antigen from fowl inoculated with coliform types. Canadian J. Comp. Med. 12: 20-25.
- Byrne J.L. 1943. Variant or atypical strains of *Salmonella pullorum*. A serological study. Canadian J. Comp. Med. 7: 227-238.
- Carpenter J.A., Burton W.H. & Garrard E.H. 1947. Non-pullorum agglutination reactions. III. Reactions with pullorum antigen from fowl inoculated with *Enterococcus*. Canadian J. Comp. Med. 11: 163-168.
- Edwards P.R. & Bruner D.W. 1946. Form variation in *Salmonella pullorum* and its relation to X strains. Cornell Vet. 36: 318-324.
- Edwards P.R., Bruner D.W., Doll E.R. & Hermann G.J. 1948. Further notes on variation in *Salmonella pullorum*. Cornell Vet. 38: 257-262.
- Edwards P.R. & Ewing W.H. 1962. Identification of Enterobacteriaceae. Burgess, Minneapolis, Minnesota, p. 131.
- Garrard E.H., McDermott L.A., Burton W.H. & Carpenter J.A. 1946. Non-specific pullorum agglutination reactions. I. Preliminary observations on fowl exhibiting non-specific reactions over and extended period. Canadian J. Comp. Med. 10: 342-347.
- Garrard E.H., Burton W.H., Carpenter J.A. & McDermott L.A. 1947. Non-specific pullorum agglutination reactions. II. Post-mortem studies on fowl exhibiting non-specific reactions over a extended. Canadian J. Comp. Med. 11: 102-107.
- Geissler H. & Kösters J. 1964. Eine Methode zur Differenzierung unspezifischer Pullorum-Agglutinations-Reaktionen. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 71: 234-236.
- Gwatkin R. 1945a. Studies in pullorum disease. VI. Comparison of whole blood and tube tests with regular and variant antigen and a combination of the two antigens. Canadian J. Comp. Med. 9: 216-223.
- Gwatkin R. 1945b. Studies in pullorum disease. V. Efficiency of homologous and heterologous antigens in detecting reacting bird in a variant infected flock. Canadian J. Comp. Med. 9: 183-191.
- Hinshaw W.R. & McNeil E. 1944. The importance of group agglutination in pullorum disease testing programs. Proc. 48th U. S. Livestock San. Ass., p. 165-170.

- Izzi R., Arino G. & Anseris P. 1974. Indagini microbiologiche e sierologiche nella pullorosi. *Atti Soc. Ital. Sci. Vet.* 28: 777-781.
- Kaufmann F. 1941. A typhoid variant and a new serological variation in the *Salmonella* group. *J. Bact.* 41: 127-140.
- Kösters J. 1965a. Untersuchungen ueber Antigenstruktur und das serologische Verhalten von *Salmonella gallinarum*. 1. Untersuchungen ueber die Verteilung der einzelnen Antigene bei verschiedenen *Salmonella gallinarum* - Staemmen. *Berl. Muench. Tieraerztl. Wschr.* 78(11): 211-213.
- Kösters J. 1965b. Untersuchungen ueber Antigenstruktur und das serologische Verhalten von *Salmonella gallinarum*. 2. Die Antikörperbildung gegen verschiedene *Salmonella gallinarum* - Staemme. *Berl. Muench. Tieraerztl. Wschr.* 78(11): 211-213.
- Kösters J. 1965c. Untersuchungen ueber Antigenstruktur und das serologische Verhalten von *Salmonella gallinarum*. 3. Die Unterscheidung unspezifischer Agglutinations-Reaktionen. *Berl. Muench. Tieraerztl. Wschr.* 78(16): 314-316.
- July J.R., Nakono M. & Chiarelli V. 1969. *Salmonella typhimurium* em pintos importados dos Estados Unidos. *Biológico, S. Paulo*, 35(4): 92-94.
- July J.R. & Hipólito O. 1970. Bactérias dos gêneros *Escherichia* e *Staphylococcus* como principais causas de reações "não pullorum" na prova da soro-aglutinação rápida aplicada a pulorose. *Arqs Inst. Biol., S. Paulo*, 37(4): 261-268.
- Monteverde J.J. & Simeone D.H. 1944. *Salmonella* distintas de *Salmonella pullorum* e *Salmonella gallinarum* em aves "reaccionantes". *Revta Fac. Agron. Vet., B. Aires*, 11: 31-41.
- Monteverde J.J., Moreno J.D., Delamer M., Hermida C.A. & Chialvo E.J. 1971. Falsos portadores "reaccionantes" el antigeno pullorum. *Revta Med. Vet., B. Aires*, 52(1): 39-48.
- Papageorgiou C., Valente L., Beranger G. & Joubert L. 1968. Spécificité, fidélité et sensibilité des antigens pulloriques des déspistage. *Bull. Acad. Vet. France* 41(3): 107-117.
- Reis J. & Nobrega P. 1956. Tratado das doenças das aves. Vol. 2. Doenças produzidas por bactérias e fungos. 2a. ed. Edições Melhoramentos, São Paulo, p. 103.
- Rodrigues D.P. & Hofer E. 1977. Diferenciação bioquímica entre *Salmonella gallinarum* e *Salmonella pullorum*. VIII Congr. Bras. Microbiologia, Rio de Janeiro. (Resumo)
- Roots E. 1952. Serologische Variation bei *Salmonella gallinarum* (*S. pullorum*) und ihre Bedeutung fuer die Serodiagnostik der weissen Kuekenruhr. *Berl. Muench. Tieraerztl. Wschr.* 65: 108-111.
- Sanders R.G., Pomeroy B.S. & Fenstermacher R. 1943. Cross-agglutination studies between *Salmonella pullorum* and other microorganism isolated from turkeys positive to the pullorum test. *Am. J. Vet. Res.* 4: 194-198.
- Silva E.N. & Hipólito O. 1977. *Salmonella canada* - Um novo sorotipo patogênico para aves. *Revta Fac. Med. Vet. Zoot., S. Paulo*, 14(2): 279-284.
- Silva E.N. & Hipólito O. 1978. Ocorrência de sorotipos de salmonelas em galinhas. *Anais 16º Congr. Mundial Avicultura, Rio de Janeiro, Vol. 3*, p. 388-394.
- Silva E.N., Hipólito O. & Hwang M.H. 1978. Avaliação do teste de pulorose frente à prova de microaglutinação e exames bacteriológicos em galinhas reprodutoras reagentes. *Anais 16º Congr. Mundial Avicultura, Rio de Janeiro, Vol. 3*, p. 379-387.
- Snoeyenbos G.H., Gotty A.M. & Roekel H. 1950. Some antigenic characteristics of *Salmonella pullorum*. *Am. J. Vet. Res.* 11: 221-225.
- Terzolo H.R., Verona A.Z., D'Empaire M. & Furowics A.J.J. 1977. Hallazgo en aves de *Escherichia coli* con antigenos comunes con el genero *Salmonella*. *Revta Assoc. Argentina Microbiol.* 9(1): 4-10.
- Williams J.E. 1953a. Antigenic studies using ammonium sulfate. I. The relative sedimentation effect of ammonium sulfate on the various antigenic types of *Salmonella pullorum*. *Am. J. Vet. Res.* 14: 458-464.
- Williams J.E. 1953b. Antigenic studies using ammonium sulfate. II. The macroscopic ammonium sulfate sedimentation test for distinguishing the antigenic forms of *Salmonella pullorum*. *Am. J. Vet. Res.* 14: 465-470.
- Williams J.E., Harris M.E. 1955. A simplified method for typing *Salmonella pullorum* cultures. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 127(941): 133-136.
- Williams J.E. & Whittemore A.D. 1973. Microtesting for avian salmonellosis. *Proc. 77th. Ann. Meeting. U. S. Animal Health Ass.*, p. 607-613.
- Williams J.E. & Whittemore A.D. 1979. Serological response of chickens to *Salmonella thompson* and *Salmonella pullorum* infections. *J. Clin. Microbiol.* 9(1): 108-114.
- Wilson J.E. 1947. The isolation of *S. typhimurium* from fowls which gave a positive agglutination test with pullorum antigen. *Vet. J.* 103: 101-104.
- Wright M.L. & Edwards P.R. 1948. The serological differentiation of *Salmonella pullorum* forms. *Am. J. Vet. Res.* 9: 386-388.
- Younie A.R. 1941. Fowl infectin like pullorum disease. *Canadian J. Comp. Med.* 5: 164-167.
- Younie A.R. 1942. Pullorum like infection of fowl. *Canadian J. Comp. Med.* 6: 172-173.

BAIXA RESISTÊNCIA DAS CÉLULAS GERMINATIVAS EM TOUROS COM RECORRÊNCIA FAMILIAR¹

JORGE FONSECA DA SILVA², JOSÉ CARLOS FERRUGEM MORAES³,
LUIZ HENRIQUE SCHUCH⁴ E SÍLVIO C. RAMOS MARTINS²

ABSTRACT.- Silva J.F., Moraes J.C.F., Schuch L.H. & Martins S.C.R. 1982. [Low germ cell resistance, bulls family recurrence.] Baixa resistência das células germinativas em touros com recorrência familiar. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 2(4):155-160. Depto Inseminação Artificial, COSULÂ, Pelotas, Rio Grande do Sul 96100.

Clinical examination of the genital system and semen analysis were performed on six bulls, a sire and five of its offspring, during periods that varied between 3 and 38 months. Tissue sections of the testicles of three of the offspring were evaluated histologically. In a total of 22 semen evaluations performed on the sire, eight years old at the last testing, total sperm pathology ranged from 38 to 100%. During three years artificial insemination indexes were studied and showed 13.79% less pregnancies than the mean in four herds of the same region over the same period. Two of the five offspring studied showed at least one semen sample with acceptable levels of sperm anomalies. Histological examination revealed alterations in the seminiferous tubules with the presence of giant multinucleated cells in the lumen, vacuolization and pyknosis of primary spermatocytes. All results obtained in this study were indicative of testicular hypoplasia with low germ cell-resistance, characterized by low fertility, probably hereditary in origin.

INDEX TERMS: Pathology of reproduction, testicular hypoplasia, low fertility, bulls.

SINOPSE.- Visando a ampliar os conhecimentos sobre o complexo hipoplasia testicular em bovinos, entidade patológica ainda não completamente esclarecida, foram estudados andrológicamente seis touros, sendo o genitor e cinco de seus filhos, com exames clínicos do sistema genital e de sêmen durante períodos que variaram de 3 a 38 meses. Entre os filhos, três tiveram um testículo estudado histologicamente. Em 22 espermiogramas realizados no genitor, com oito anos de idade no momento do último exame, a patologia espermática total oscilou entre 38 e 100%. Em três anos o percentual de vacas prenhas através de inseminação artificial foi 13,79% abaixo da média de quatro outras propriedades da região no mesmo período. Entre os cinco filhos estudados, apenas dois apresentaram alguma amostra de sêmen com níveis aceitáveis de patologia espermática. Exames histológicos revelaram alterações nos túbulos seminíferos em diversos níveis, com a presença de

células gigantes multinucleadas no lúmen, vacuolização e picnose de espermatócitos primários. Todas as características neste estudo foram indicativas de um quadro de hipoplasia testicular com baixa resistência das células germinativas, deixando explícitos dois fatos: a subfertilidade e a provável origem hereditária.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Patologia da reprodução, hipoplasia testicular, baixa fertilidade, bovinos, touro.

INTRODUÇÃO

Expressiva parcela de reprodutores que apresentam diminuída sua eficiência reprodutiva são portadores de alterações, de origem hereditária, na espermatogênese. Entre estes processos destaca-se, nos bovinos, o complexo hipoplasia testicular, que ocorre com frequências variáveis em diferentes raças e locais onde são criados animais desta espécie. (Gledhill 1973, Humphrey & Ladds 1975)

Uma classificação compreensiva de hipoplasia testicular é apresentada por McEntee (1979), caracterizando a síndrome em pelo menos cinco tipos distintos. Entre estes, encontra-se um tipo especial, descrito pela primeira vez por Lundgren (1972), na Suécia, em um touro que apresentava fertilidade

¹ Aceito para publicação em 16 de junho de 1982.

² COSULÂ, Departamento de Inseminação Artificial, Pelotas, Rio Grande do Sul 96100.

³ Instituto José Ghisolfi, Faculdades Unidas de Bagé, Bagé, RS 96400.

⁴ Departamento de Patologia Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS 96100.

em torno de 5% abaixo da dos demais reprodutores utilizados em inseminação artificial na região e de cujos filhos aproximadamente 50% tiveram de ser retirados da reprodução por apresentarem sêmen de má qualidade. Os animais gravemente afetados por esta síndrome podem apresentar sêmen aquoso e testículos pequenos; em casos menos graves, os touros jovens apresentam sêmen normal, seguindo-se um quadro de degeneração testicular alguns meses após.

Tendo em vista que o complexo hipoplasia ainda não se encontra totalmente esclarecido, é importante que sejam incorporadas à literatura informações sobre alterações na espermatogênese em touros com características similares e de difícil diagnóstico.

MATERIAL E MÉTODOS

A genitália de seis touros da raça Santa Gertrudis foi examinada segundo a metodologia descrita por Larson (1980) durante períodos que variaram de 3 a 38 meses. Os seis animais derivam de uma mesma família, sendo o genitor caracterizado por "M" e cinco de seus filhos identificados de "F1" a "F5".

O probando M teve seu sêmen examinado durante 38 meses, tendo sido efetuadas 30 coletas, das quais 22 foram estudadas quanto à morfologia espermática. As coletas de sêmen nos seis touros foram realizadas com vagina artificial ou eletroejaculador em função da libido dos animais. No exame imediato do sêmen e classificação das anormalidades espermáticas foi utilizada a metodologia de Blom (1950, 1972), tomando-se como valores máximos aceitáveis para os defeitos espermáticos os recomendados por Vale Filho et al. (1978).

As informações sobre a fertilidade do sêmen congelado do probando e o desempenho reprodutivo de 11 filhas deste foram colhidas através dos índices de não retorno e diagnóstico de gestação ao longo de um período de seis anos.

Três dos filhos do genitor M, com três anos de idade, após terem tido seu sêmen colhido e examinado, foram submetidos a orquiectomia unilateral direita, para exame histológico, e as porções testiculares coletadas foram embebidas em solução de Bouin por 76 horas e logo após processadas pela técnica usual de inclusão em parafina, sendo os cortes corados com hematoxilina e eosina.

No que se refere ao sêmen congelado dos animais em estudo, foi utilizado o teste de termorresistência, que consistiu na incubação das amostras de sêmen em um mililitro de solução fisiológica durante um período de cinco horas. Neste exame, o critério adotado para considerar uma amostra de sêmen como razoável foi o de que a amostra deveria apresentar, no final do teste, motilidade igual ou superior a 5% (Fleitas et al. 1976).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Quadro 1 são apresentadas as médias de ocorrência de anomalias espermáticas no probando e também o número de ejaculados em que estas apareceram. Observa-se que entre os considerados defeitos maiores tiveram maior importância

as seguintes formas anormais: cabeça solta anormal, delgado na base, gota citoplasmática proximal e cauda dobrada com gota distal. Da mesma forma, os defeitos menores que acusaram percentagens médias elevadas foram cauda dobrada ou enrolada e gota citoplasmática distal.

Quadro 1. *Características dos espermogramas do touro M em 22 exames durante um período de 38 meses*

Anormalidade espermática	$\bar{x} \pm s$	Nº de coletas em que ocorreu o defeito
Acrossoma	1,50 $\pm$ 0,97	11
Subdesenvolvido	1,26 $\pm$ 0,83	11
Cabeça solta anormal	4,46 $\pm$ 4,03	17
Delgado na base	3,85 $\pm$ 3,90	22
Piriforme	1,48 $\pm$ 0,80	11
G.C.P.	7,93 $\pm$ 6,63	22
Pequeno anormal	1,00 $\pm$ 0,66	9
Contorno anormal	1,64 $\pm$ 0,98	11
Formas teratológicas	0,75 $\pm$ 0,29	4
Peça intermediária	3,80 $\pm$ 4,28	22
Cauda fortemente dobrada	6,40 $\pm$ 8,34	2
Cauda dobrada com gota	7,97 $\pm$ 3,91	15
Delgado	3,88 $\pm$ 4,21	22
C.L.G.P.	2,39 $\pm$ 1,16	19
Cabeça solta normal	5,78 $\pm$ 4,98	17
Abaxial	1,83 $\pm$ 2,14	17
Cauda dobrada ou enrolada	12,87 $\pm$ 7,47	22
G.C.D.	10,02 $\pm$ 8,40	22

Observando-se associadamente estes resultados e as variações no quadro espermático deste touro representadas na Figura 1, fica bem evidenciado que o probando M apresenta distúrbio com características irreversíveis na espermatogênese.

O sêmen colhido do touro M, no sétimo exame, mostrou-se em boas condições no exame imediato e foi congelado em "pellets" a fim de evidenciar sua taxa de fertilidade. Esta amostra apresentava motilidade espermática de 70%, concentração de 700.000 espermatozoides por mm³ e 53% de anormalidades totais, e entre estas, individualmente, apenas gotas citoplasmáticas proximal e distal estavam acima dos valores de referência. No Quadro 2 foram reunidos os percentuais de vacas prenhas em três anos de estudo, resultando em 65,67% de prenhez, dado este que, comparado com 79,46% de quatro propriedades tomadas ao acaso, na mesma região do Estado e nos mesmos períodos, incluindo 1.446 vacas inseminadas, foi significativamente menor ($X^2 = 24,18$; 1 G.L.; $P < 0,001$).

No que se refere aos descendentes do touro M, os resultados referentes a tamanho testicular e espermograma foram con-

densados no Quadro 3. Os valores médios dos exames de sêmen revelaram que os cinco animais, com idades bem inferiores à do pai e com testículos de tamanho médio, também apresentavam alteração na espermatogênese. Na Figura 2 é possível notar que apenas os touros F2 e F4 alcançaram, em alguma amostra de sêmen, níveis aceitáveis de patologia espermática.

Quadro 2. Avaliação da eficiência reprodutiva do touro M, através de inseminação artificial

Período	Nº vacas inseminadas	Nº vacas prenhez	% prenhez
75/76	10	9	90,00
76/77	117	84	71,79
77/78	141	83	58,59
Total	268	176	65,67

A Figura 3 mostra a correspondência dos defeitos espermáticos com níveis acima dos aceitáveis (médias individuais acima de 5% para defeitos maiores e acima de 10% para os defeitos menores) entre o genitor M e seus cinco filhos considerados. Mesmo que estes resultados não tenham muito significado quanto à herança dos tipos de anomalias, é interessante salientar-se a repetição destas anomalias em níveis elevados na segunda geração.

A eficiência reprodutiva de 11 filhas do touro M em cinco anos de observação foi de 38,71%, ou seja, a razão entre o número de diagnósticos positivos de prenhez e o número de vezes que entraram em serviço de inseminação artificial. Embora subestime a capacidade reprodutiva destas vacas, este dado evidencia nelas uma eficiência inferior à média geral do Estado do Rio Grande do Sul, a qual, para o mesmo período, foi estimada em 47,67% pelo Ministério da Agricultura, Delegacia Federal do Rio de Grande do Sul (1981).

Os touros F3, F4 e F5, quanto ao exame histológico dos testículos, mostraram lesões características de hipoplasia e/ou degeneração testicular (McEntee 1970). A Figura 4 apresenta

% ANORM.
ESPERMÁTICAS

* VALORES MÁXIMOS ACEITÁVEIS

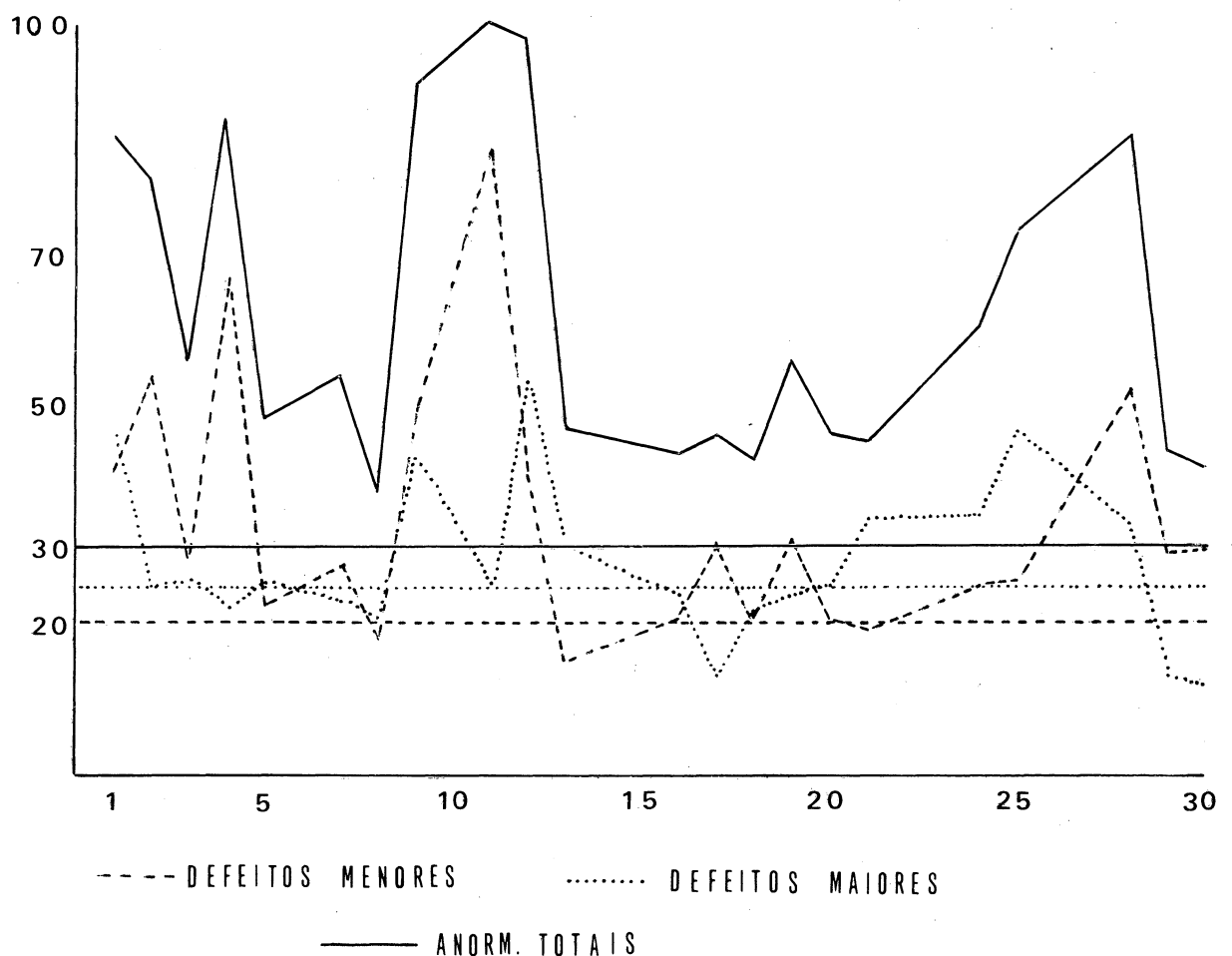


Fig. 1. Variações no quadro espermático do touro M.

% ANORM
ESPERMÁTICAS

*VALORES MÁXIMOS ACEITÁVEIS

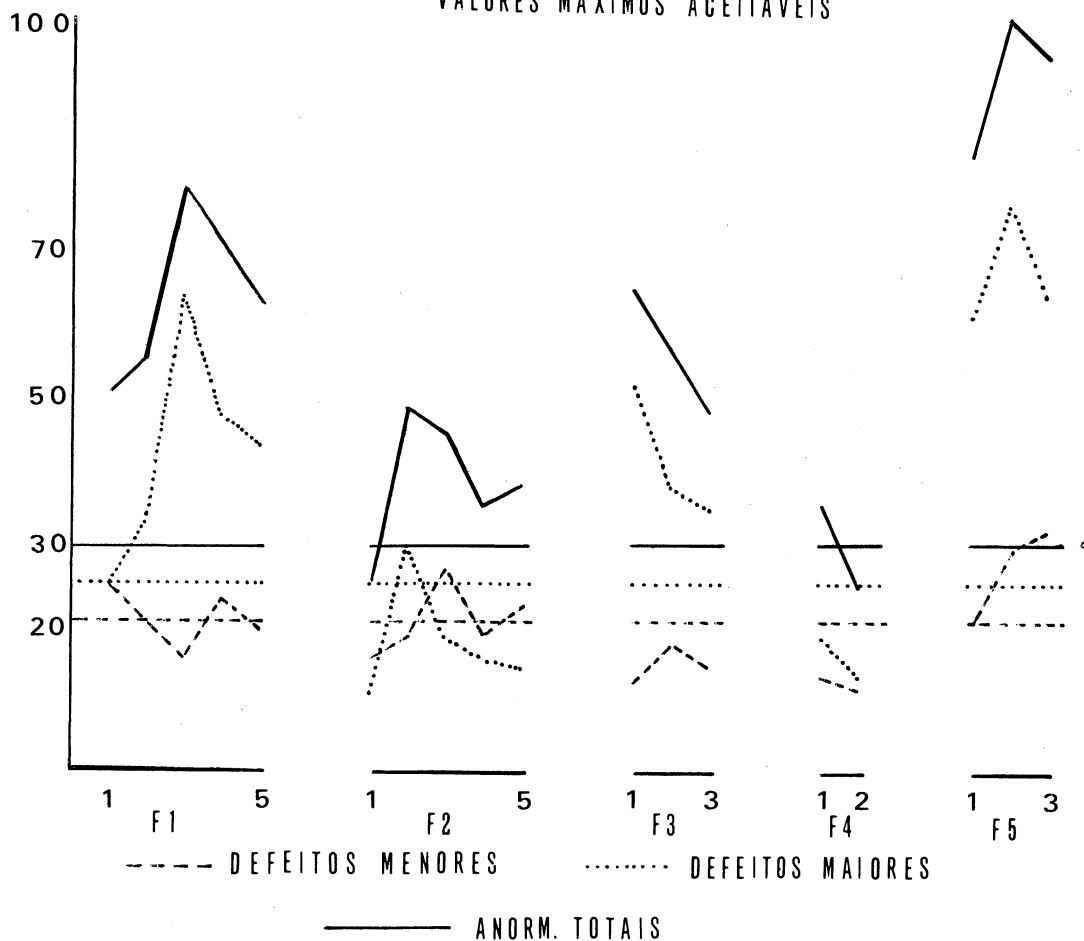


Fig. 3.

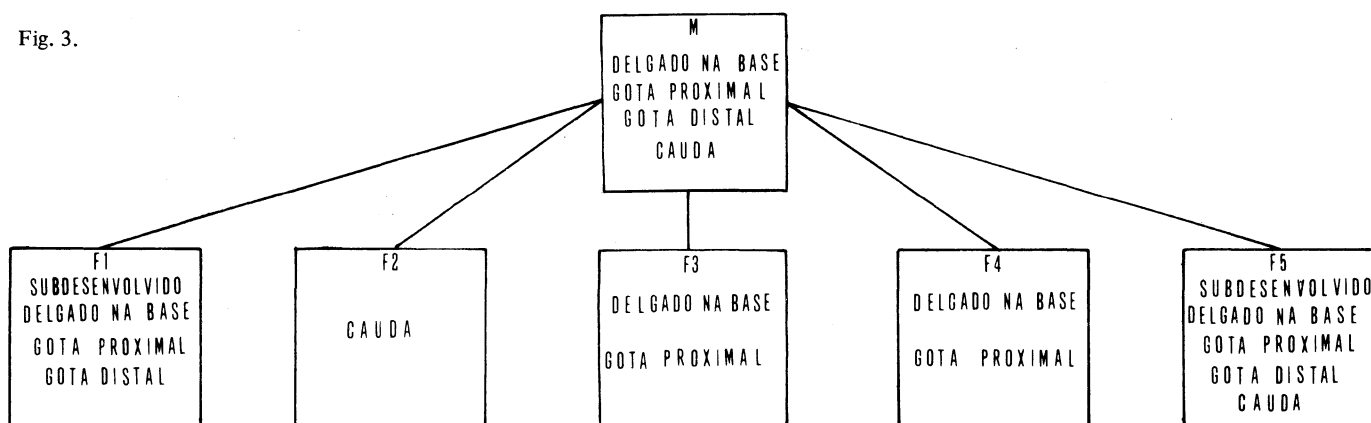


Fig. 2. Variação no quadro espermático em cinco filhos do touro M.

Fig. 3. Aparecimento dos defeitos espermáticos em níveis acima dos aceitáveis no genitor M e em cinco de seus descendentes.

Quadro 3. Características médias do exame andrológico do touro M e de cinco de seus filhos

Touro	Perímetro escrotal	Volume ml	Motilidade %	Concentração (esp./mm ³) • 10 ⁵	Defeitos espermáticos		Nº de coletas de sêmen	Período meses	Idade ^(a) anos
					Maiores %	Menores %			
M	43	8,05 ± 4,67	46,40 ± 13,84	5,23 ± 3,46	28,57 ± 10,89	34,20 ± 17,31	22	38	8
F1	40	6,75 ± 5,33	50,00 ± 6,32	2,12 ± 2,34	46,80 ± 18,28	23,90 ± 4,26	6	18	3
F2	35	3,20 ± 1,30	62,00 ± 4,47	4,04 ± 0,55	14,25 ± 1,85	24,80 ± 5,26	5	3	2
F3	32	5,83 ± 2,02	46,67 ± 11,55	4,50 ± 2,65	41,67 ± 8,69	14,33 ± 2,84	3	12	4
F4	34	5,50 ± 0,71	75,00 ± 7,07	6,70 ± 1,98	19,00 ± 7,78	12,00 ± 1,41	2	12	4
F5	36	7,00 ± 2,65	11,67 ± 7,64	3,50 ± 1,41	66,50 ± 7,86	27,00 ± 5,57	3	12	4

(a) Idade no momento do último espermograma.

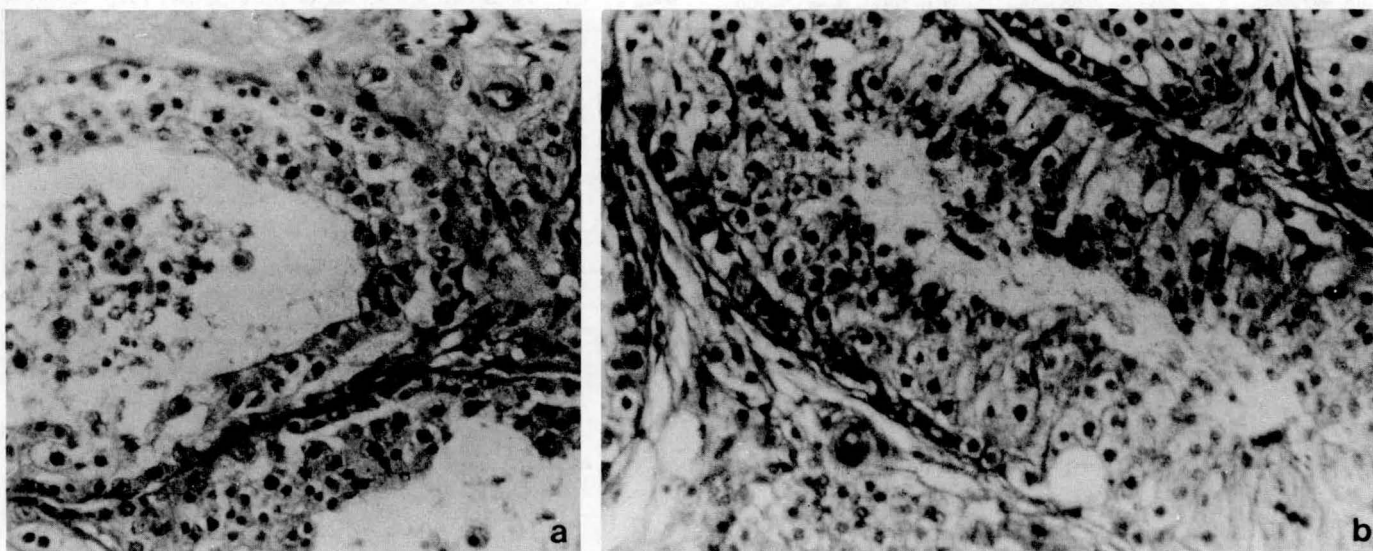


Fig. 4. Aspecto dos túbulos seminíferos de descendentes do touro M. Em (a) observa-se aumento do interstício e células gigantes na luz do túbulo. Em (b) salienta-se a vacuolização e picnose dos espermatócitos secundários.

estas lesões, que vão desde a maior quantidade de interstício, e células gigantes multinucleadas na luz dos túbulos seminíferos (a), até à vacuolização e picnose dos espermatócitos primários (b).

No que tange à avaliação *in vitro* do sêmen congelado, foram efetuados, no total, 11 testes de termorresistência, dos quais oito do touro M e três de seu filho F2, sem que, em nenhuma oportunidade, houvesse sobrevivência espermática após as cinco horas de incubação.

As descrições das alterações patológicas no quadro espermático e biópsia testicular dos touros estudados são coincidentes com diversos autores (McEntee 1970, 1979, Kenney 1971, Lundgren 1972, Galloway 1976), desta maneira permitindo incluir esta anormalidade no complexo hipoplasia testicular; este fato é ainda reforçado por Kenney (1971), que levanta a hipótese de que as células germinativas poderiam ter

proliferação suficiente porém entrariam em degeneração após a puberdade dos animais, o que caracterizaria um quadro de baixa resistência das células germinativas, corroborado ainda pelo fato de, no presente estudo, a população de células da linhagem espermática ser baixa nos três animais cujos testículos foram analisados histologicamente.

No presente estudo, dois fatos são bem claros: a eficiência reprodutiva do touro M é 13,79% inferior à média da região, persistindo com espermograma alterado por longo período de tempo sem perspectivas de recuperação, e, como em outros estudos, existe recorrência familiar, tornando cada vez mais evidente a origem hereditária. Tendo em vista que os animais afetados, em inúmeras situações, apresentam espermograma normal e ausência de alterações clínicas quando jovens, torna-se necessário determinar a correta forma de herança deste tipo de hipoplasia testicular, já que a frequência do gene ou genes

responsáveis pode ser muito aumentada através do emprego de reprodutores afetados em inseminação artificial.

REFERÊNCIAS

- Blom E. 1950. On the evaluation of bull semen with special reference to its employment for artificial insemination. Thesis, Editor Carl F. Mortensen, Copenhagen.
- Blom E. 1972. The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. Atti VII Simp. Int. Zootechnia, Milano, p. 125-139.
- Fleitas A., Bonifacino L., Aragunde M., Ferraris A. & Carba A. 1976. Fecundidad del semen congelado en pellet por el test de termoresistencia. Boln Soc. Med. Vet. Uruguay 12:117-122.
- Gledhill B.L. 1973. Inherited disorders causing infertility in the bull. J. Am. Vet. Med. Assoc. 162:979-982.
- Galloway D.B. 1976. Factors affecting fertility in Bulls. Anais II Simp. Nac. Reprod. Anim., Belo Horizonte, 2:102-122.
- Humphrey J.D. & Ladds P.W. 1975. Pathology of the bovine testis and epididymis. Vet. Bull. 45:787-797.
- Kenney R.M. 1971. Selected diseases of the testicle and epididymis of the bull. Proc. VI Int. Conf. on Cattle Diseases, Oklahoma, U.S.A., p. 295-314.
- Larson L. 1980. Physical examination of the reproductive system of the bull. p. 307-330. In: Morrow D.A. (ed.) Current therapy in theriogenology. W.B. Saunders, Philadelphia.
- Lundgren B. 1972. A preliminary report on hypoplasia of the gonads in the Swedish Red-and-white cattle. Proc. VII Int. Congr. Anim. Reprod. Insem. Artificial, p. 1957.
- McEntee K. 1970. The male genital system. In: Jubb K.V. & Kennedy P.C. (ed.) Pathology of domestic animals. vol. 1. 2nd edition. Academic Press, New York.
- McEntee K. 1979. Pathology of the testis of the bull and stallion. Proc. Fall Conf. Soc. Theriogenology, U.S.A., p. 80-91.
- Ministério da Agricultura, Delegacia Federal do Rio Grande do Sul. 1981. Alguns dados sobre a agropecuária do Estado do Rio Grande do Sul. 31p.
- Vale F^o V.R., Pinto P.A., Fonseca J. & Soares L.C.V. 1978. Patologia do sêmen. Trabalho do II Prêmio Dow de Veterinária. 54p.