ARQUIVOS

DO

INSTITUTO DE BIOLOGIA ANIMAL

VOLUME 4

ANO 1961

EDITADO PELO INSTITUTO DE BIOLOGIA ANIMAL, DO DEPARTAMENTO NACIONAL
DA PRODUÇÃO ANIMAL, DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, BRASIL

Os **Arquivos do Instituto de Biologia Animal** têm por fim a publicação de artigos que contenham resultados de pesquisas efetuadas no referido Instituto ou em colaboração com outras entidades. Os trabalhos dizem respeito a estudos sôbre biologia e patologia animal e assuntos correlatos, especialmente, os relativos às doenças infecciosas, parasitárias, carenciais e toxicoses nos animais domésticos, objetivando sobretudo etiologia, patogenia, diagnóstico, profilaxia e tratamento.

Os **Arquivos** são editados periòdicamente em volumes que representam o conjunto de artigos publicados, sob forma de separata, após aprovação pelo Diretor do Instituto.

ENDEREÇOS DO INSTITUTO DE BIOLOGIA ANIMAL

Sede: Quilômetro 47 da antiga rodovia Rio-São Paulo (área do Centro Nacional de Ensino e Pesquisas Agronômicas), Município de Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro.

Para correspondência: Edifício da Pesca, 2.º andar, Praça 15 de Novembro, Rio de Janeiro, Brasil.

Enderêço telegráfico: AGRIBA, Rio de Janeiro.

PEDE-SE PERMUTA

SOLICITAMOS CANJE

PLEASE EXCHANGE

NOUS DEMANDONS L'ÉCHANGE

WIR BITTEN UM AUSTAUSCH

CHIEDIAMO CAMBIO

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA

Ministro: Armando Monteiro Filho

DEPARTAMENTO NACIONAL DA PRODUÇÃO ANIMAL (D.N.P.A.)

Diretor Geral: Miguel Cione Pardi

INSTITUTO DE BIOLOGIA ANIMAL (I.B.A.)

Diretor: Ivo Torturella

SEÇÕES TÉCNICAS

Seção de Anatomia Patológica (S.A.P.)

Chefe: Jefferson Andrade dos Santos

Seção de Zoonoses Bacterianas (S.Z.B.)

Chefe: Leonhard Riedmüller

Seção de Zoonoses Parasitárias (S.Z.P.)

Chefe: Clóvis Batista Nascimento

Seção de Zoonoses por Vírus (S.Z.V.)

Chefe: Renato Augusto da Silva

Seção de Ornitopatologia (S.O.)

Chefe: José Francisco Guimarães

Seção de Química e Farmacologia (S.Q.F.)

Chefe: Guilherme Geissner

ÍNDICE

1) P. DACORSO FILHO; J. LANGENEGGER; J. F. FARIA, & O. J. L. GONZÁLEZ — Infestação por *Spirocerca lupi* e sarcoma osteogênico em esôfago de cão. Infestation by *Spirocerca lupi* and oesophageal osteogenic sarcoma in dog 1-11

2) W. BRADA — Estudos sôbre a eimeriose em aves. I. Experimentos com coccidiostáticos. Studies on eimeriosis of poultry. I. Experiments with coccidiostatics 13-27

3) W. BRADA — Estudos sôbre a eimeriose em aves. II. Contribuição ao estudo da epizootiologia. Studies on eimeriosis of poultry. II. Contribution to the study of the epizootiology 29-37

4) V. L. XAVIER & M. C. H. LANGENEGGER — Salmonelose fatal (?) por *Salmonella derby*, em porco doméstico (*Sus scrofa domesticus*). Fatal Salmonellosis (*Salmonella derby*) in a pig 39-48

5) J. LANGENEGGER & A. M. SZECHY — Brucelose dos equídeos domésticos. Isolamento da *Brucella abortus* de bursites da cernelha, no Brasil. Equine brucellosis. The isolation of *Brucella abortus* of withers bursites in Brasil 49-63

6) P. DACORSO FILHO; J. LANGENEGGER; J. H. GUIMARÃES — Ocorrência de cestódios em equídeos necropsiados na Escola Nacional de Veterinária. The occurrence of cestodes in equines submitted to post-mortem examinations at the Escola Nacional de Veterinária 65-76

7) J. DÖBEREINER & C. H. TOKARNIA — Ocorrência de *Globidium* no intestino delgado de bovinos e ovinos. Occurrence of *Globidium* in the small intestine of bovines and ovines 77-92

8) M. R. NILSSON & C. M. BITTENCOURT FILHO — Experiências com vacinas monovalentes "A" contra a febre aftosa, obtidas da cultura do vírus pelo método Frenkel. Experiments with monovalent type "A" vaccines against foot and mouth disease, obtained from culturing the virus by Frekel's method 93-98

9) R. A. SILVA & N. GIOVINE — Novos focos da doença de Aujeszky no Estado de Minas Gerais. I. Estudo do foco no Município de Almenara. New outbreaks of Aujeszky's Disease in the State of Minas Gerais. I. Study of an outbreak in the Município of Almenara 99-104

10) R. A. SILVA; M. R. NILSSON; M. M. SILVA; W. BRADA & J. F. GUIMARÃES — O diagnóstico da doença de Newcastle pelo teste de inibição da hemaglutinação. The diagnosis of Newcastle Disease by hemagglutination-inhibition test 105-108

11) R. A. SILVA; M. R. NILSSON; J. F. GUIMARÃES; M. M. SILVA & W. BRADA — Novos focos da doença de Newcastle no Brasil. New outbreaks of Newcastle Disease in Brazil 109-114

12) R. A. SILVA; G. V. RIVELLO & M. R. NILSSON — Isolamento de vírus rábico de morcego não hematófago da espécie *Phyllostomus hastatus hastatus* (Pallas). The isolation of rabies virus from nonsanguivorous bats, *phyllostomus hastatus hastatus* (Pallas) 115-120

13) R. A. SILVA; C. B. COLA; H. F. RÊGO & A. RUSCHI — A pesquisa de vírus rábico em morcegos do Estado do Espírito Santo. Research of rabies virus in bats in the State of Espirito Santo 121-126

14) J. F. FARIA — Tumor de células intersticiais do testículo em coelho. Intersticial cell tumor in the testis of a Chinchilla breed rabbit 127-131

15) J. ANDRADE DOS SANTOS — Sôbre a ocorrência de um hepatoma enzoótico entre coelhos. On the occurrence of an enzootic hepatoma in rabbits 133-167

16) N. M. SILVA — Estudos sôbre a paratuberculose. I. Diagnóstico de um caso da doença. II. Isolamento da amostra de *Mycobacterium paratuberculosis* em meio de Hohn. III. Isolamento do *Mycobacterium paratuberculosis* em embrião de galinha. Studies on Johne's Disease. I. Diagnosis of one case of the disease. II. Isolation of the *Mycobacterium Johnei* in Hohn's medium. III. Isolation of *Mycobacterium paratuberculosis* in chicken embryos 169-183

17) M. N. R. DÂMASO & C. H. TOKARNIA — Taxas de cobalto em fígado de bovinos e ovinos do Nordeste e Norte do Brasil. Cobalt values found in the livers of bovines and ovines of the Northeast and North of Brasil 185-194

18) C. H. TOKARNIA; J. DÖBEREINER; C. F. C. CANELLA & M. N. R. DÂMASO — Deficiência de cobalto em bovinos na Serra da Ibiapaba, no Estado do Ceará. Cobalt deficiency in cattle in the Serra da Ibiapaba, in the State of Ceará 195-202

19) C. H. TOKARNIA; C. F. C. CANELLA & J. DÖBEREINER — Intoxicação por um ""tingui" (*Mascagnia rigida* Griseb.) em bovinos no Nordeste do Brasil. Poisoning by a "tingui" (*Mascagnia rigida Griseb.*) in bovines in the Northeast of Brazil 203-215

20) D. NOVAES — Valor de crescimento da torta de mamona. — The growth — promoting value of castor seed meal 217-223

COMPOSTO E IMPRESSO NO SERVIÇO GRÁFICO DO IBGE, BRASIL

Arq. Inst. Biol. Animal. 4: 1-11
1961 — Min. Agricultura, Brasil

INFESTAÇÃO POR SPIROCERCA LUPI E SARCOMA OSTEOGÊNICO EM ESÔFAGO DE CÃO *

PAULO DACORSO FILHO **, JEROME LANGENEGGER ***, JOSÉ FREIRE DE FARIA ***
e OSWALDO JESÚS LOZANO GONZÁLEZ ****

I. INTRODUÇÃO

Embora ainda controvertida a etiologia dos neoplasmas, limitam-se os pesquisadores a analisar as possíveis causas ou fatôres que através observações e estudos se acham relacionados com a ocorrência e a natureza dos blastomas. Dentre os agentes ou fatôres predisponentes que agiriam por irritação crônica, são enumerados alguns metazoários (parasitos) cujo parasitismo vem paralelamente associado, de uma ou de outra forma, à incidência de formações neoplásicas.

Na literatura são conhecidos cêrca de 40 helmintos como agentes cancerígenos, embora novos trabalhos afastassem muitas dessas pesquisas como observações errôneas. Bogliolo [2], patologista e mestre radicado em nosso meio, refere-se às restrições que se devem fazer ao simples estabelecimento de relação causa — efeito entre parasitismo e blastomas, já que muitos dêsses primeiros trabalhos não apresentam documentação histopatológica, já porque são confundidas lesões granulomatosas ou hiperplásicas ou metaplasias com blastomas e finalmente porque a concomitância das lesões parasitárias e oncológicas pode ser simplesmente coincidente. Assim nos trabalhos de Fibiger [8], êste autor admitia que a infestação por *Gongylonema neoplasticum,* parasito do estômago do rato, podia provocar o aparecimento de carcinomas ou processos hiperplásicos, reproduzidos mesmo experimentalmente, no entanto foram considerados erros de interpretação, não se tratando de neoplasias e sim de metaplasias da mucosa gástrica em animais alimentados com dietas deficientes em vitamina A [10].

Dentre os parasitos com ação cancerígena é conhecida a referência ao *Schistosoma hematobium,* apontado como causador de carcinoma em bexiga humana, no Egito, onde a citada neoplasia ocorre em alta incidência nas populações muito parasitadas. A respeito, Miller, Brancato e Muelling [14] apresentam recente estudo histopatológico das lesões evolutivas desta parasitose e carcinoma vesical.

O parasitismo natural ou experimental por *Cysticercus fasciolaris,* forma larvar da *Taenia taeniaeformis* (*crassicollis*), localizado no fígado do rato, pode determinar lesões sarcomatosas do tecido conjuntivo em tôrno do cisto parasitário e que é considerado por vários autores como verdadeira neoplasia, conforme ponto de vista defendido por Borrel [4].

---

* Entregue para publicação em 14 de novembro de 1960.

** Prof. Catedrático da Escola Nacional de Veterinária, Rio de Janeiro.

*** Veterinários do Instituto de Biologia Animal e Assistentes da Escola Nacional de Veterinária, Rio de Janeiro.

**** Aluno do 4.º ano da Escola Nacional de Veterinária, Rio de Janeiro.

Bonne e Sandground[3] evidenciam a presença de processo neoplásticos gástricos, nos limites da malignidade, relacionados com a infestação por nematódio, *Nochtia nochti,* em macacos javaneses.

A partir de 1955, com o trabalho de Seibold, Bailey, Hoerlein, Jordan e Schwabe[18] surgiram na literatura novas observações de parasitose estreitamente relacionada com o aparecimento de fibrossarcomas e sarcomas osteogênicos no esôfago do cão. Trata-se da infestação por *Spirocerca lupi,* nematódio que invade as paredes do esôfago, geralmente no seu terço distal, formando nódulos fibrosos dentro dos quais se alberga, mantendo orifício para a luz do órgão. Mais raramente se localiza êste nematódio na parede da aorta e muito excepcionalmente em outros órgãos.

Os citados autores, examinando um total de 943 cães, dos quais 39 infestados por *Spirocerca lupi,* registraram por 7 vezes a ocorrência de sarcomas, no terço caudal do esôfago, fazendo breve descrição clínica, anátomo e histopatológica. No mesmo trabalho ainda se referem a mais três casos citados em "addendum", totalizando assim 10 observações. Em 6 casos descrevem simultâneamente a presença da neoplasia na lesão do esôfago contendo exemplares de *Spirocerca lupi;* em 3 casos não mais encontraram o parasito, mas, baseados no achado das espondilites ossificantes deformantes assinaladas em cães parasitados, presumem ter havido infestação anteriormente; de 1 caso não possuem informes relacionados com a infestação pelo aludido parasito, por tratar-se de peça operatória. O estudo histológico das neoplasias revelou tratar-se em 3 casos de fibrossarcoma dos quais um apresentou metástase e em 7 casos de osteossarcoma (sarcoma osteogênico), destes, 4 evidenciaram metástases. Em 8 das 10 observações foi verificada espondilite ossificante deformante, afetando as últimas vértebras torácicas, achado que os autores supõem seja conseqüente à infestação por *Spirocerca lupi,* dada a relação anatômica desta lesão com a do esôfago parasitado. Por fim cumpre destacar a observação de osteoartropatias em 6 casos que merecem, ao nosso ver, atenção especial pela sua alta freqüência.

Posteriormente, em 1958, Ribelin e Bailey[17], continuando o trabalho anterior[18], elevaram para 16 as observações de infestação por *Spirocerca lupi* associada a sarcomas no esôfago de cão, dentre 163 animais parasitados após o exame necroscópico de 1969 cães com a idade de 6 ou mais meses. Elevou-se assim também para 11 os casos de sarcomas osteogênicos dos quais 6 com metástases, e para 5 o número de fibrossarcomas, dêstes, três com metástases. Também aumentou para 9 a incidência de osteoartropatias nestes 16 casos.

É portanto digno de nota o trabalho que vem sendo feito pelos citados autores americanos[18, 17] sôbre a associação parasitária — blastomatosa, pela primeira vez descrita no cão em que esperam comprovar a ação cancerígena do *Spirocerca lupi*. Uma confirmação deste trabalho já apareceu em 1957, no Egito, em publicação de Hansen, Hindaway e Moustafa[9] assinalando 3 casos de sarcomas associados com a infestação por *Spirocerca lupi* no esôfago de cão, em um total de 59 cães parasitados, dentre 134 animais examinados. Ainda temos ciência de duas citações semelhantes de Jarret e Urquhart[12], sendo um caso oriundo de Jamaica e diagnosticado como fibrossarcoma anaplásico e o outro caso procedente da Palestina com o diagnóstico de sarcoma osteogênico, sôbre os quais desconhecemos pormenores.

II. NOSSA OBSERVAÇÃO

A partir de 1950 vínhamos observando raros casos de infestação por *Spirocerca lupi* em cães necropsiados na Escola Nacional de Veterinária, achados que constituiram motivo de trabalho anterior sôbre o assunto, sendo neste

descrito a ocorrência e lesões de 9 casos de espirocercose em um total de 239 cães examinados[6]. O número de infestações registradas até o presente momento elevou-se a 19 dentre um total de 528 exames necroscópicos. Em uma das últimas observações, protocolada sob o n.º 3 708 no livro de necrópsias, encontramos a parasitose associada com sarcoma osteogênico no próprio nódulo parasitário do esôfago, a par de metástases pulmonares.

Esta observação é de uma cadela, raça mista, 12 anos de idade, utilizada para caça, procedente de um sítio em Piranema, Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro. Na anamnese salientou-se apenas que há mais de dois meses o proprietário vinha notando uma tumoração que crescia progressivamente nas duas mamas posteriores direitas. Não houve referência a vômitos. O exame clínico, que na ocasião não poude contar com o auxílio radiológico, revelou massa neoplásica de consistência fibrosa, com partes amolecidas, sem ulcerações, comprometendo as citadas mamas. Com o diagnóstico presuntivo de tumor misto de mama, o animal foi submetido a intervenção cirúrgica, sendo extirpada massa sólida com áreas císticas, de forma ovoide, nodular, medindo cêrca de 12 x 8 x 6 cm e pesando 700 g. Ao corte mostrou áreas esbranquiçadas duras e cavidades contendo líquido negro com detritos.

O animal veio a morrer no post-operatório e a necrópsia revelou congestão das vísceras, endometrite cística, cistos ovarianos e a presença de dois exemplares de *Dioctophyme renale* livres na cavidade abdominal. Congestão dos pulmões com presença de áreas e nódulos irregulares esbranquiçados, de consistência dura, no parênquima pulmonar de aspecto neoplásico. Ventrículo direito dilatado com a presença de *Dirofilária immitis* no coração direito e na parede da crossa da aorta presença de pequeno nódulo contendo um exemplar de *Spirocerca lupi*. No terço posterior do esôfago três nódulos contendo vários espécimes de *Spirocerca lupi*, dos quais o maior, localizado na vizinhança do cárdia, média 4 x 3 x 3 cm aproximadamente, endurecido, arrendondado e fazendo saliência na luz do esôfago. A mucosa esofagiana apresentava, no local, área ulcerada irregular contendo detritos necróticos e pus.

O estudo microscópico abrange a leitura de preparados histológicos do nódulo do esôfago, da região gástrica vizinha ao cárdia, de fragmentos de pulmão e de útero. As secções histológicas dos demais órgãos não apresentam alterações dignas de nota ou que interessem à presente descrição.

As técnicas utilizadas foram, após inclusão em parafina, colorações pela hematoxilina-eosina, pelo método tricrômico de Gomori e pelo método de Mac Manus-Hotchkiss.

A microscopia da lesão esofagiana mostra, o pequeno aumento, a destruição do epitélio pavimentoso estratificado no terço distal do órgão, deixando exposto o corion que se vê densamente infiltrado de leucócitos, contendo ainda numerosos vasos neoformados e secções de vermes. Nessa zona inflamatória observa-se que o nódulo, que apresenta cavidade irregular cheia de leucócitos, alguns plasmócitos e células histiocitárias, mostra nessa luz secções longitudinais umas, irregulares outras, de vermes *Spirocerca lupi*. Na altura do nódulo todos os elementos estruturais da parede esofagiana foram destruídos e substituídos por êsse tecido inflamatório envolto por fibrose. Na membrana própria vêm-se alguns agrupamentos glandulares de tipo alveolar ramificado, com epitélio cilíndrico mucíparo, envoltos por leucócitos. Ainda fazendo corpo com os elementos inflamatórios, cujo estudo minucioso já foi por nós apresentado em trabalho anterior[6], nota-se mesmo com pequeno aumento, a presença de massas celulares exuberantes, fusiformes, sem limites nítidos e que entram em contacto com a luz da galeria escavada pelos parasitos (Fig. 1). Tais massas celulares excessivas são predominantemente formadas por células fusiformes, de núcleos também em

forma de fusos, pouco ricos em cromatina ou então apresentando substância cromática com grãos grosseiros e fortemente basófilos, freqüentemente em cariocinese, sendo comum a demonstração de figuras atípicas de mitose, algumas tripolares. As células fusiformes em aprêço possuem citoplasma escasso, havendo fibrilas finas de natureza colágena ao longo delas, não se formando entretanto feixes espêssos. A técnica tricrômica de Gomori para fibras colágenas evidencia com precisão as propriedades dessas fibras, caracterizando-as como colágenas. Os feixes constituídos por êsses elementos celulares neoformados, já a pequeno aumento, deixam ver a disposição irregular, em turbilhões, percebendo-se lacunas cheias de sangue e de leucócitos marginados pelos próprios elementos celulares fusiformes (Fig. 2).

Infiltrados leucocitários discretos, por vêzes, representados por leucócitos isolados, são percebidos entre as células fusiformes blastomatosas.

Ao percorrer cortes histológicos seriados outros aspectos morfológicos surgem, vendo-se assim extensas zonas de necrobiose dos elementos celulares fusiformes, percebendo-se ainda os contornos celulares, assinalando-se entretanto a persistência de células e fibras com tôdas as características tintoriais conservadas ao redor de vasos sanguíneos ou de lacunas cheias de sangue. Nas zonas necróticas êsses vasos e lagos sanguíneos mostram trombos recentes (Fig. 3).

É comum o achado de áreas em que os elementos fusiformes oncocitários vão se tornando mais volumosos, com aspecto poliédrico com o citoplasma basófilo mais abundante e núcleos esferoidais, vesiculosos, com um ou dois nucléolos evidentes. As fibras intercelulares cedem lugar, nesses campos, à substância homogênea eosinófila, que se torna mais compacta afastando êstes oncocitos de forma poliédrica, que finalmente acabam se localizando na margem dessa substância hialina acidófila como células em fileira ou então, acabam por envolver êsses elementos celulares que tomam formas esferoidais, com nítida cápsula. O primeiro aspecto é o de traves osteoides típicas, e o segundo é o de tecido cartilaginoso hialino. No caso dos oncocitos de aspecto condroide observa-se grande variação do volume das células, da forma nuclear e com freqüência vêm-se condrocitos binucleados em uma única cápsula. Outra característica destas áreas osteoides e cartilaginosas é a freqüência com que sais de cálcio, reconhecíveis pela sua intensa afinidade pela hematoxilina, se depositam na substância fundamental, quer das zonas condroides quer das áreas osteoides. A distribuição dessas seções cartilaginosas e osteoides no seio da massa tumorosa é irregular, interessando contudo mais as áreas periféricas do nódulo do que as próximas do processo inflamatório central e dos parasitos (Figs. 4, 5, 6).

As secções do estômago, abrangendo as zonas próximas do cárdia, deixam ver integridade das suas camadas estruturais, não havendo invasão pelos elementos neoplásicos descritos, assinalando-se apenas a infiltração leucocitária difusa, principalmente da lâmina própria e da submucosa, notando-se polimorfonucleares, raros eosinófilos e alguns plasmócitos. Os mesmos elementos inflamatórios são observados entre os túbulos glandulares da mucosa.

A microscopia das secções de pulmão, evidencia a presença de vários nódulos disseminados na trama alveolar, constituídos pelos mesmos elementos fusiformes ou arredondados já assinalados na lesão esofagiana primitiva. Êsses nódulos apresentam aspecto mais celular e compacto nas periferias, tornando-se os oncocitos mais dissociados nas áreas centrais, por edema, por leucócitos e observando-se aí a presença de zonas de necrobiose do tipo de coagulação, com densos acúmulos leucocitários. Nas áreas externas, as células fusiformes oncocitárias mostram anaplasia mais acentuada, com numerosas figuras de mitose, algumas das quais atípicas, com citoplasma abundante e basófilo.

A medida que se examinam as zonas centrais vêm-se as células dissociadas com numerosas fibrilas colágenas, tomando as células aspecto mais arredondado

e com núcleos vesiculosos. Nas áreas de necrose, o mesmo aspecto de agrupamentos celulares em torno dos vasos, bem conservados, também é verificado aqui.

Nota-se a presença de um nódulo situado sob a mucosa brônquica, reduzindo a luz deste e deslocando-se os elementos blastomatosos sob o epitélio, comprimindo-o e havendo pequenas áreas em que o epitélio está destruído, deixando exposta na luz do brônquio a superfície do nódulo blastomatoso (Figs. 7 e 8).

As secções do útero deixam ver endométrio de espessura variável, apresentando glândulas tubulosas simples, de tamanhos variáveis, sendo comum o achado de glândulas distendidas e transformadas em cistos revestidos por epitélio cúbico ou mesmo plano simples. O estroma endometrial é escasso contento discreto edema e alguns infiltrados leucocitários. O miométrio é formado por feixes musculares lisos plexiformes, percorridos por vasos sanguíneos numerosos de paredes espessas.

III. COMENTÁRIOS

Se verificarmos as publicações especializadas que trazem grandes coleções de neoplasias dos animais domésticos, veremos que os blastomas primitivos do esôfago são raros, quer nas relativas aos trabalhos estrangeiros quer aos nacionais.

Assim, tirante os dados do livro texto de Smith e Jones [10] em que são compilados os números observados por vários autores e mais 4.050 casos de neoplasias de animais domésticos, até aquela data registrados no Registro Americano de Patologia Veterinária, num total de 7.052 casos nos quais estão assinalados 6 sarcomas e 11 sarcomas osteogênicos do esôfago do cão, as demais estatísticas, como dissemos, são pobres em blastomas esofagianos.

Mulligan [15] não refere caso específico de sarcoma na sua coleção, apenas transcreve o caso de Jackson [11]. Feldman [7] tampouco cita na sua lista este tipo de neoplasia. Cotchin [5] refere-se apenans aos casos descritos por Seibold e cols. [18] Jackson [11] menciona nos seus quadros finais a presença de um sarcoma fibroblástico com metástases hematogênica do esôfago do cão. Não há referências minuciosas a este caso.

Nos tratados clássicos como de Nieberle e Cohrs [16] não há referência específica a sarcomas esofagianos de cão e no mais básico livro de patologia veterinária, Joest [13] não há tampouco menção de sarcoma esofagiano do cão.

Destarte os trabalhos de Seibold e cols. [18] tiveram o mérito de chamar a atenção dos pesquisadores para a freqüência da associação blastomatosa do tipo sarcomatoso com o parasitismo pelo *Spirocerca lupi* no cão. Posteriormente a estes trabalhos já são conhecidos os de Hansen e cols. [9] e os de Jarret e col. [12], já mencionados linhas atrás, confirmando as observações dos autores norte-americanos.

Ainda a respeito do mesmo assunto Ribelin e Bailey [17] publicaram um trabalho de revisão da matéria em que mostraram ser estatìsticamente significativa a associação de espirocercose com a neoplasia. Nesse artigo já referem 5 casos de fibrossarcoma e 11 de osteossarcoma num grupo de 163 cães portadores de espirocercose, dentre um total de 1.969 necrópsias executadas em cães com mínimo de 6 meses de idade, ou seja 9,8%. Neste mesmo trabalho transcrevem os autores a informação pessoal que lhes fôra prestada pelo eminente mestre Smith de que na Escola do Texas, em 7 casos de espirocercose ocorrera 1 caso de osteosarcoma (14,3%).

Noutro trabalho, Bailey [1], verifica a possibilidade da freqüência da infestação por *Spirocerca lupi* estar crescendo, tornando-se em certas áreas muito comum, daí agravar-se o problema das neoplasias esofagianas, desde que admi-

tida relação de causa e efeito entre parasito e blastoma. Propõe-se êste autor estudar, experimentalmente, a possível reprodução dos blastomas com infestações provocadas.

As nossas observações sôbre a freqüência de parasitose nos cães, necropsiados no serviço da cadeira da Escola Nacional de Veterinária, mostram que não houve aumento estatìsticamente significativo da infestação nos dois grupos de necrópsias realizadas, uma até 1954, com a média de 3,8% e outro de 1954 a 1960 com a média de 3,4%, entretanto sòmente um único caso de neoplasia foi assinalado. Trazemos pois uma descrição macroscópica do achado de neoplasia e com um estudo histológico do blastoma primitivo do esôfago e concomitante infestação por *Spirocerca lupi*, a par das metástases pulmonares, a identificação do primeiro caso desta associação mórbida, em todos os pontos comparável a que os autores norte-americanos, descreveram em primeira mão.

Visamos a despertar a curiosidade dos patologistas e clínicos veterinários, com este trabalho, para esta possibilidade de simultaneidade de processos patológicos.

IV. RESUMO

Os autores apresentam o estudo anátomo-patológico e histopatológico de um sarcoma osteogênico com metástases pulmonares, originário no terço caudal do esôfago, associado a lesões parasitárias causadas por *Spirocerca lupi* em um cão. A bibliografia é revista. Trata-se do primeiro caso desta associação helmintíase-neoplasia descrita no Brasil.

V. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Prof. Jefferson Andrade dos Santos, Chefe da Seção de Anatomia Patológica do Instituto de Biologia Animal e Catedrático da mesma especialidade na Escola Fluminense de Medicina Veterinária, o interêsse despertado pelo assunto e a contribuição bibliográfica especializada.

INFESTATION BY *SPIROCERCA LUPI* AND OESOPHAGEAL OSTEOGENIC SARCOMA IN DOG

Abstract

The authors present the histological and anatomical description of a case of osteogenic sarcoma with pulmonary metastasis associated with *Spirocerca lupi* in the caudal third of the oesophagus of a mongrel dog. This is the first case of this type of lesion described in the Brasilian veterinary literature.

VI. REFERÊNCIAS

1) Bailey, W. S. (1958). — *Spirocerca lupi*. The Present Situation and Potencial Problem. *The Auburn Veterinarian*, 15: 1-4.

2) Bogliolo, L. (1933). — Sopra i raporti tra elminti e blastomi. *Rev. Parasitologia, I Supl.*, pp. 1-60.

3) Bonne, C. & Sandground, J. H. (1939). — On the Production of Gastric Tumors, Bordering on Malignancy, in Javanese Monkeys through Agency of *Nochtia nochti*, a Parasitic Nematode. *Amer. Jour. Cancer, 37:* 173-185.

4) Borrel, A. (1906). — Cancer et helminthes. *Bull. Acad. Méd., 55:* 591.

5) Cotchin, E. (1951. — *Neoplasms of the Domesticated Mammals*. Farnham Royal. Bucks. England.

6) DACORSO FILHO, P.; LANGENEGGER, J. & DÖBEREINER, J. (1954). — Ocorrência da infestação por *Spirocerca lupi* em cães do Rio de Janeiro. *Veterinária, 8:* 33-51.

7) FELDMAN, W. H. (1932). — *Neoplasms of Domesticated Animals*. W. B. Saunders Co., Philadelphia and London.

8) FIBIGER, J. A. G. (1919). — On *Spiroptera carcinomata* and their Relation to True Malignant Tumors with Some Remarks on Cancer Age. *Jour. Cancer Res., 4:* 367-387.

9) HANSEN, H.; HINDAWAY, M. R. & MOUSTAFA, M. S. E. (1957). — Patho-Anatomical Studies on Canine Spirocercosis. *Egyptian Vet. Med. Jour., 4* (4): 149-164.

10) HITCHCOCK, C. R. & BELL, E. T. (1952). — Studies on the Nematode Parasite, *Gongylonema neoplasticum,* and Avitaminosis A in the Forestomach of Rats. Comparison with Fibiger's Results. *Jour. Nat. Cancer Inst., 12:* 1345-1387.

11) JACKSON, C. (1936). — Incidence and Pathology of Tumors of Domesticated Animals in South Africa. *Onderstepoort Jour. Vet. Sci., 6:* 3-460.

12) JARRETT & URQUHART (1956). — *Royal Soc. Trop. Med. and Hyg., 50:* 306. (Comunicação pessoal por Bailey, W. S.)

13) JOEST, E. (1919). — *Spezielle Pathologische Anatomie der Haustiere*. 1. Bd. Richard Schoetz, Berlin. S. 276-277.

14) MILLER, C. D.; BRANCATO, F. P. & MUELLING, R. (1954). — Schistosomiasis of the Urinary Bladder with Serial Biopsies under Therapy. *Jour. Urology, 72:* 197.

15) MULLIGAN, R. M. (1949). — *Neoplasms of the Dogs*. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, U. S. A.

16) NIEBERLE, K. & COHRS, P. (1954). — *Lehrbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie der Haustiere*. Verlag Gustav Fischer, Jena, Alemanha.

17) RIPELIN, W. E. & BAILEY, W. S. (1958). — Esophageal Sarcomas Associated with *Spirocerca lupi. Cancer, 11* (6): 1242-1246.

18) SEIBOLD, H. R.; BAILEY, W. S.; HOERLEIN, B. F.; JORDAN, E. M. & SCHWABE, C. W. (1955). — Observation on the Possible Relation of Malignant Esophageal Tumors and *Spirocerca lupi*. Lesions in the Dog. *Amer. Jour. Vet. Res., 16:* 5-11.

19) SMITH, H. A. & JONES, T. C. (1957). — *Veterinary Pathology*. Lea & Febiger, Philadelphia, U.S.A.

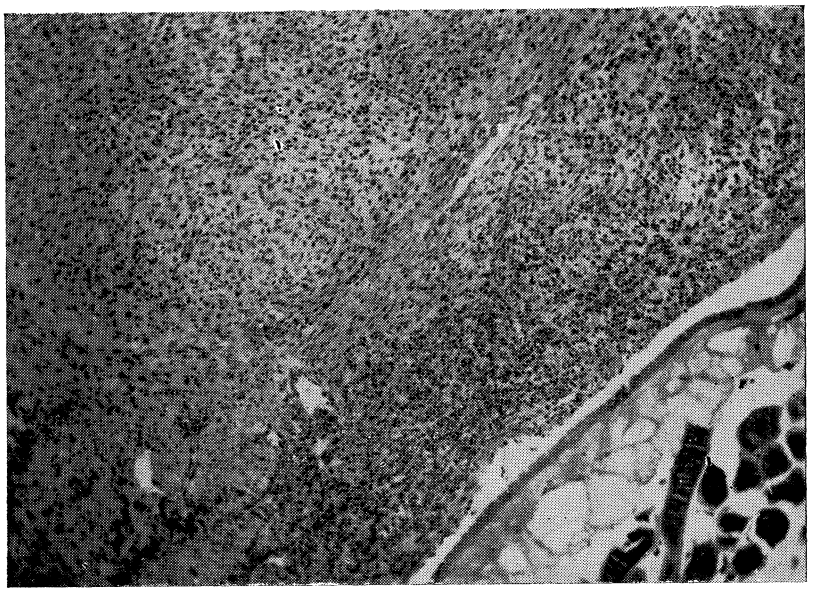


Fig. 1: *Corte do nematódio marginado por tecido inflamatório e mais externamente por células neoplásicas. H.-E. Obj. 10.*

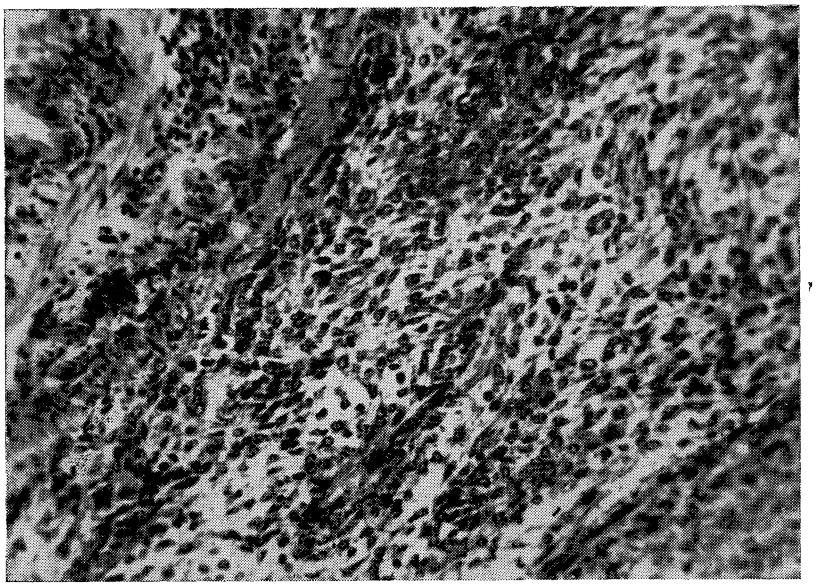


Fig. 2: *Feixes de células fusiformes com anaplasia acentuada. H.-E. Obj. 20.*

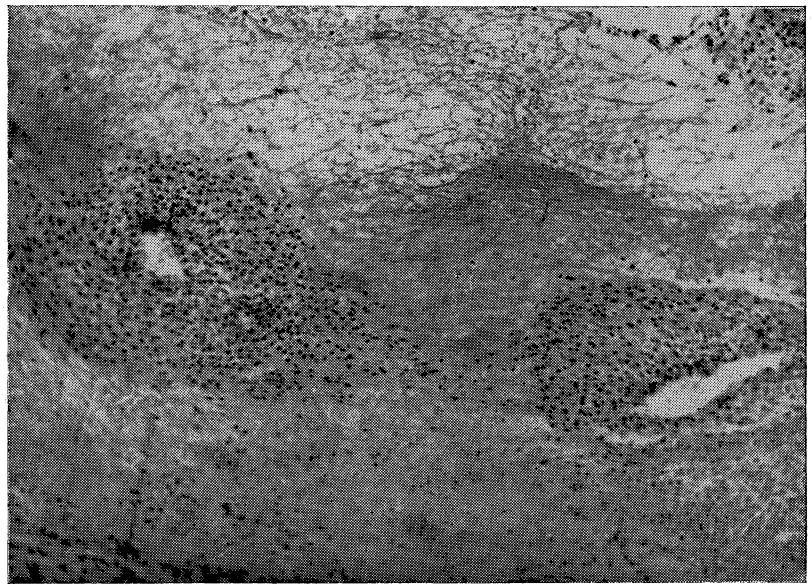


Fig. 3: *Ninhos de células neoplásicas perivasculares em extensas zonas de necrobiose. H.-E. Obj. 10.*

Fig. 4: *Zonas condroides com calcificação. H.-E. Obj. 10.*

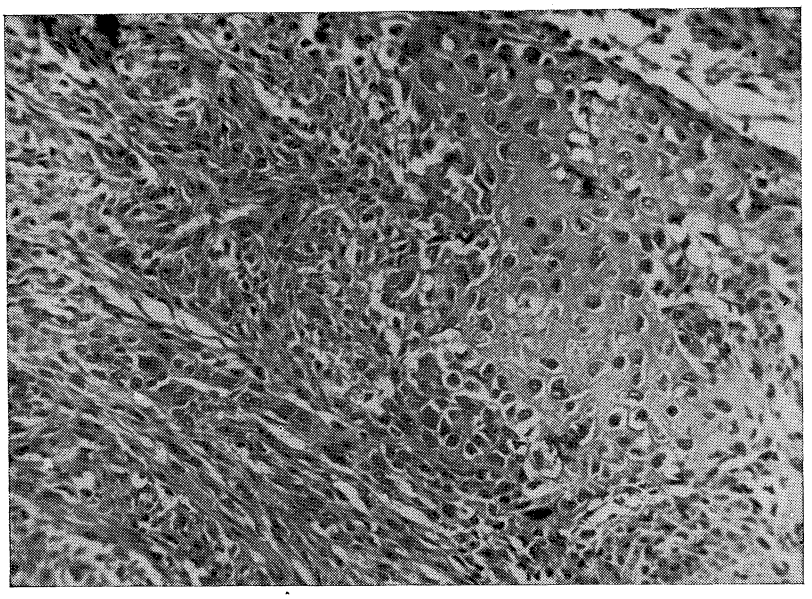


Fig. 5: *Zonas osteoides e condroides ao lado de áreas fusiformes. H.-E. Obj. 20.*

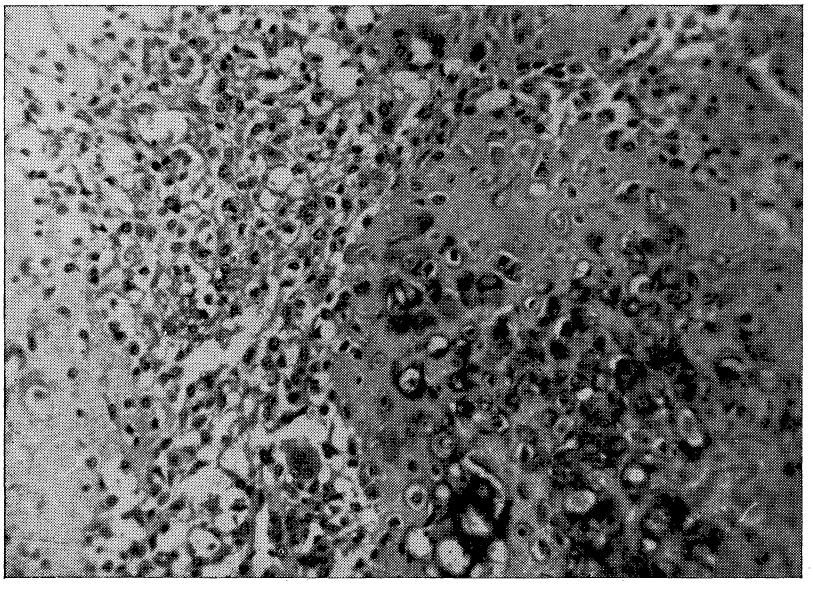


Fig. 6: *Ilhotas condromatosas com atipias celulares e calcificação da substância fundamental. H.-E. Obj. 10.*

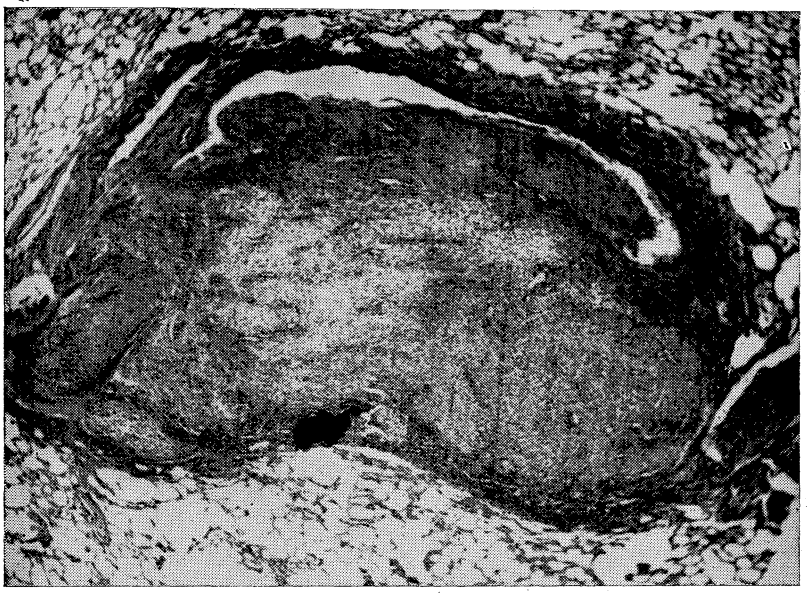


Fig. 7: *Metástase pulmonar comprimindo a luz brônquica. H.-E. Obj. 3.*

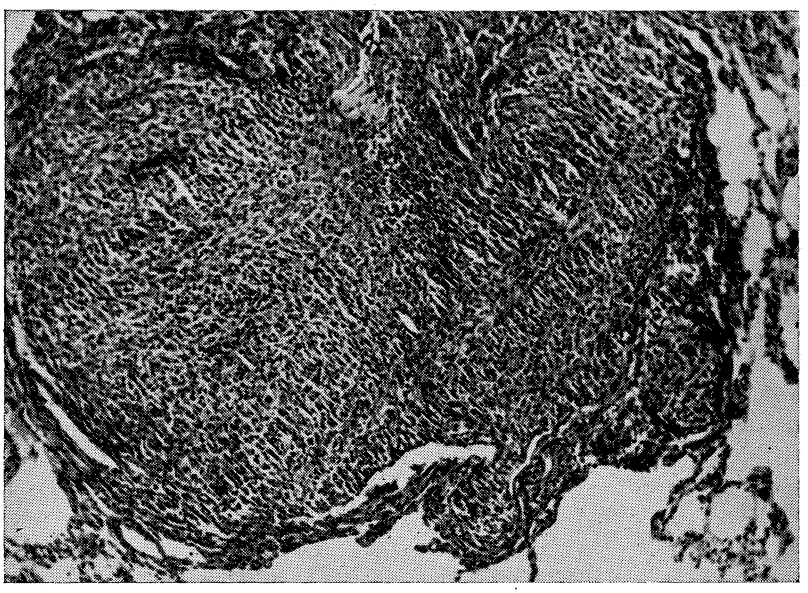


Fig. 8: *Nódulo metastático do pulmão constituído por células fusiformes. H.-E. Obj. 10.*

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 13-27
1961 — Min. Agricultura, Brasil

ESTUDOS SÔBRE A EIMERIOSE EM AVES

I. EXPERIMENTOS COM COCCIDIOSTÁTICOS *

WILHELM BRADA **

I. INTRODUÇÃO

Os resultados insatisfatórios no combate às formas exógenas de eimérias, formas estas, que são as principais responsáveis pela propagação da moléstia, levaram os cientistas à procura de substâncias químicas que poderiam influenciar a evolução das formas endógenas do parasita. Drogas desta natureza devem proteger em primeiro lugar o epitélio intestinal e dificultar a penetração do parasita através do mesmo. Em segundo lugar, a droga deve possuir qualidades destrutivas para as formas evolutivas dentro das células intestinais e assim impedir a formação de merozoitos e de gametos.

Substâncias químicas que dificultam a penetração do parasita no epitélio, formam um obstáculo mecânico. São substâncias adstringentes como por exemplo, azul de metileno, creolina, quinina etc. que eram usadas anteriormente contra a doença.

A vitamina A, como vitamina de proteção do epitélio também protege o epitélio intestinal contra a penetração de esporozoitos e merozoitos. Minners [23] em suas experiências com a vitamina A em pintos com coccidiose, confirma o fato de uma resistência elevada do epitélio intestinal. Todavia acontece, que sempre penetram esporozoitos no epitélio, de modo que estas drogas não apresentam um papel decisivo e não se pode considerar perfeita esta medicação. Se houvesse possibilidade de tratar o epitélio intestinal dos animais jovens com substâncias que impedissem totalmente a penetração dos esporozoitos, o remédio ideal estaria encontrado, e a eimeriose deixaria de ser um problema. [34]

Com o advento das sulfonamidas, o combate à coccidiose entrou num estado promissor em conseqüência da destruição das formas evolutivas do parasita por ação quimioterápica. A sulfanilamida como uma das primeiras sulfas mostrou influência sôbre o ciclo evolutivo da *Eimeria mitis* e da *E. acervulina,* mas fracassou nas infestações causadas por *E. tenella e necatrix*.[21] A sulfaguanidina em concentração a 1 : 100 na ração mostrou-se eficiente contra a infestação fraca causada por *E. tenella* e *necatrix,* mas não após infestações fortes por estas espécies de eimérias. [22] Horton-Smith e Long [18] acham a sulfamezatina um meio muito eficiente no combate contra coccidiose cecal. A droga é administrada na concentração de 0,2% na água de bebida, por 5 dias seguidos, ou em tratamento com interrupções. Assim os autores conseguiram salvar 50 — 73% dos animais doentes. É necessário porém evitar concentrações maiores. Os mesmos autores [18] verificaram que o emprêgo da droga a 2% na água por mais

* Entregue para a publicação em 25 de agôsto 1960.
Êste trabalho foi realizado sob os auspícios do Conselho Nacional de Pesquisas.
** Da Seção de Ornitopatologia do Instituto de Biologia Animal, Rio de Janeiro, e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

de 7 dias, provocava hemorragias intestinais, diminuição do crescimento e em galos, hiperplasia dos testículos junto com desenvolvimento prematuro da crista e das barbelas. Resultados semelhantes a respeito da eficiência curativa da sulfametazina conseguiram Farr e Wehr [11] e outros autores com sulfamerazina e sulfadiazina. Hawkins e Kline [16] constataram que doses terapêuticas de sulfas, administradas na água, se mostraram mais eficientes do que aplicadas na ração. Sintomas tóxicos causados pela sulfamerazina com necroses no baço e no fígado são referidos por Farr e Wehr [11].

A sulfaquinoxalina é considerada como meio mais eficiente no tratamento da coccidiose aguda e crônica. Pela administração contínua durante 5 dias, a mortalidade dos animais jovens diminue de 3,7% para 0,06% [19]. O mesmo resultado se consegue pela aplicação com interrupção. A dose terapêutica oscila entre 0,05% — 0,1% na ração, conforme a idade dos animais, e entre 0,006% e 0,04% como tratamento preventivo na água [24]. Peterson [28] constatou efeito máximo em concentração de 0,03% 24 horas após a infestação.

Infelizmente a administração da sulfaquinoxalina a 0,06% na água por 4 dias provoca intoxicações que aumentam, quando se prolonga o tratamento até 7 dias. As lesões tóxicas se caracterizam por nódulos branco acinzentados no baço, rim, fígado, coração e pulmão. Hemorragias sob a pele dos membros e da crista são observadas [29].

Em geral recordam as lesões provocadas por carência de vitamina K, manifestando-se em forma de petéquias no rim, no fígado e por hemorragias múltiplas [3]. Pelas nossas observações em animais de 2 meses as lesões e apresentaram em forma de hemorragias subcutâneas localizadas no dorso, coxas, pescoço, epicárdio e miocárdio.

Davies [8] verificou que pintos com 4 a 6 semanas de idade se mostraram mais sensíveis às sulfonamidas do que aves com menos de 3 semanas de idade, as quais suportaram a droga relativamente bem. O mesmo autor verificou também que a sulfaquinoxalina na água se mostrou mais nociva do que na ração.

O estudo de medicamentos quimioterápicos do grupo dos nitrofuranos começou no ano 1940 no Research Laboratories of the Pharmacal Company. O primeiro trabalho sôbre êste assunto foi publicado por Dodd e Stillman [9], que observaram, que certos 5—nitrofuranos apresentam notável atividade antibacteriana. Começando com o furfural, um produto residual de cascas de aveia e de elementos de milho, os pequisadores constataram, que a adição dum nitrogrupo numa das cinco posições do anel furano dá um alto grau de atividade antibacteriana. Depois dêstes estudos originais o primeiro furano foi isolado e denominado furacina. Foi usado em tratamentos profiláticos de ferimentos infectados.

Baseado neste trabalho, Harwood e Stunz [14] publicaram em 1948 um trabalho sôbre a nitrofurazona como medicamento contra a coccidiose.

A nitrofurazona é um pó cristalino, de côr amarelo limão, inodoro e solúvel em água e álcool. Em contato com hidróxido a 10% dá uma reação de côr vermelho-amarelada até laranja. Além disso a nitrofurazona junto com zinco metálico e com ácido sulfúrico diluído em presença de álcool, se dissolve lentamente formando uma solução incolor [25]. Atualmente 5 nitofuranos são usados em medicina veterinária a saber: Furazina (nitrofurazona), Furaspor (nitrofurfuryl-eter), Furadantina (nitrofurantoin), Furoxene (furazolidona) e Furamazona (nifuraldezone) [31].

A nitrofurazona e a furazolidona são usadas na ração em concentrações de 0,011% e mais, como curativo, e em 0,005% como preventivo durante epizootias causadas por *E. tenella* e *E. necatrix* [17]. Sturne [37] conseguiu salvar 90% dos

pintos com nitrofurazona a 0,02%, administrando a droga durante 11 dias e iniciando a medicação 24 horas antes da infestação. Roberts [30] conseguiu evitar a mortalidade das aves artificialmente infestadas com concentrações de nitrofurazona entre 0,004%, 0,005% na água como profilático, e com 0,006% como curativo.

Johnson [20] demonstrou que a furazina solúvel em concentração ne 0,008% na água protegia os pintos, e com 0,005% — 0,01% tinha efeito curativo, para a coccidiose causada por *E. tenella*. Acha uma concentração de 0,008% altamente eficiente sem determinar ação nociva para o pêso dos animais. Harwood e Stunz [14] em suas experiências com nitrofurazona verificaram que a concentração de 1 : 9 000 na ração era eficiente para diminuir as perdas até 2,5%.

Dooren [10] constatou, que concentrações maiores provocam intoxicações, que se manifestaram por hiperemia no fígado, rins, timo e medula óssea. A dose de 150 — 200 mg por quilo de pêso provoca a morte dos animais. Fritsche [12] observou em pintos sintomas de intoxicação pela nitrofurazona usada na concentração 0,1% e recomenda a dose máxima de 0,07% na ração. Sintomas de intoxicação com 0,1% foram registrados também por Blount [2]. Os animais apresentaram plumagem arrepiada, inapetência e recusavam a água de bebida. A necrópsia revelou enterite catarral e degeneração do miocárdio. O mesmo autor não observou diferença notável no aumento do pêso em animais medicados com nitrofurazona em comparação com aves não tratados. Gordon e cols. [13] achavam a postura um pouco diminuída mas não pior em comparação com a percentagem dos animais criados no campo. Com a concentração de 0,01% conseguiram controlar surtos de coccidiose. As suas observações eram confirmadas a campo num lote de 35 000 pintos.

Uma outra droga usada preventivamente contra a coccidiose é a nicarbazina. Cuckler e cols. [5] verificaram que diversos complexos moleculares de carbanilidas substituídas, produziam um efeito antiparasitário. Quìmicamente se trata de 4,4'-dinitrocarbanilida (DNB) e 2-hidroxi-4,6-dimetylpirimidina (HDP). Trata-se de um pó fino, amarelo, pràticamente inodoro, não higroscópico. Examinando esta droga, os autores constataram, que tinha ação sôbre a *E. tenella*. O medicamente diminuiu a eliminação de oocistos. Os animais infestados sobreviveram a moléstia e aumentaram em pêso. Os autores demonstraram que doses de 0,01% a 0,04% de nicarbazina protegem os animais. Todavia, a administração da droga não deve ultrapassar as 24 horas "post infectionem". Ott e cols. [27] relatam também êste fato e recomendam a nicarbazina como meio profilático. Em concentrações de 0,0125% na ração aplicada um dia antes e um dia após a infestação, impede-se a irrupção da doença. Barber [1] verificou que a nicarbazina a 0,04% na ração, provoca intoxicação, ao passo que quantidades de 0,02% administradas por 6 semanas produzem resultados muito bons. Animais medicados com 0,015% alguns dias antes da infestação não perecem da doença. Com concentrações de 0,007%, 0,01%, e 0,0125% dois dias antes da infestação com *E. tenella* não se impedem enterites hemorrágicas. Shumard e Evelth [35] referem aumento de pêso em aves tratadas com nicarbazina. Cuckler e cols. [7] referem ação favorável da droga também contra a *E. necatrix*.

Doses exageradas de nicarbazina provocam intoxicações. Rubin [32] observou diminuição do pêso e casos de morte sem alterações macroscópicas e microscópicas nos órgãos pela aplicação da droga em doses de 0,1%. Ott e cols. [27] referem dois fenômenos característicos após a administração de nicarbazina: Já em doses profiláticas da droga aplicadas em galinhas de raça New Hampshire em postura, as poedeiras produziram ovos de côr branca; o pigmento marrom (Ooporfirina) reapareceu quando a droga foi suspensa por 3 dias. Evidente é também o fato, que a droga tem influência sôbre a postura: Concentrações de 0,07% de nicarbazina impediram totalmente a postura.

Sem dúvida a aplicação das sulfas e de drogas do grupo dos nitrofuranos, como também a nicarbazina diminuiram notàvelmente as perdas causadas por eimeriose em aves.

No decorrer de nossos estudos sôbre a eimeriose das aves, examinamos a Furacina (nitrofurazona) denominada NFZ-solúvel e a Nicrazina (nicarbazina).

II. MATERIAL E MÉTODOS

1. *Coccidiostáticos usados em nossos experimentos:*

O NFZ-solúvel contém 4,59% de furazina (nitrofurazona). A droga é indicada para controlar os surtos de coccidiose causadas por *E. tenella* e *necatrix*. No Brasil é fabricado pelos Laboratórios Eaton do Brasil Ltda. Em nossos testes examinamos a droga tanto como curativo quanto como medicamento preventivo. O NFZ-solúvel foi administrado conforme as instruções recomendadas, isto é 5,5 g para 100 animais com pêso total de 22,700 g. Como preventivo usamos a metade desta dose. O medicamento é um pó de coloração amarela como enxofre e solúvel na água.

A Nicrazina (nicarbazina) é um pó fino, compacto, amarelo, não higroscópico quase inodoro. Cada 500 g de Nicrazina contém 125 g de nicarbazina. No mercado aparece sob a forma de mistura a 12,5% e 25% para facilitar a sua manipulação. Além da substância básica a droga contém milho, farelo de trigo e solúveis sêcos oriundos de fermentação contendo vitamina B 12. É usado na ração como preventivo. O produtor é Merck, Sharp e Dohme S.A., Industria Brasileira. A droga foi administrada na ração em quantidade para produzir ração profilática com 0,0125% de nicarbazina. Para homogenizar o medicamento na ração usamos um batedor de bolo com capacidade de 7 litros.

2. *Animais de experimentação:*

Utilizamos para nossos testes pintos de raça New Hampshire adquiridos com a idade de um dia no Instituto de Zootecnia do Ministério da Agricultura. Para os experimentos com o NFZ as aves foram usadas ao atingirem a idade de 28 dias; para o teste de Nicrazina com idade de um dia. Os animais foram criados em criadeiras de metal com piso de tela de arame com malhas de 1 cm, os comedouros e bebedouros fora. Antes de serem colocados os pintos, as criadeiras foram limpas mecânicamente, afastando-se assim todos os restos de fezes e de alimentos. Depois foram lavadas com solução fervente de sóda a 2%, expostas depois aos raios do sol por 3 dias seguidos, lavadas com amônia a 2%, expostas outra vez ao sol por 2 dias. No fim aplicamos a vassoura de fogo. Os animais foram divididos em grupos iguais, marcados e pesados. Como ração receberam um alimento com a seguinte composição:

Fubá	42%	Dohyfral 200 g (vitamina A e D)	
Farelinho	20%	Riboflavina 200 mg	
Remoido	10%	sulfato de manganes 12,5 g	
Carne	8%		
Peixe	3%	A composição química era:	
Leite	3%		
Soja	4%	proteina	20,17%
Amendoim	4%	gordura	4,57%
Alfafa	5%	fibra	5,18%
Ostra	0,5%	cálcio	1,0615%
Sal fino	0,5%	fósforo	0,8392%

A quantidade de ração para os animais do experimento com NFZ foi calculada em 300 a 350 g para 10 pintos por dia, a quantidade de água 600 cc. Os animais da experimentação para o teste com Nicrazina receberam ração e água à vontade. A temperatura do laboratório oscilou entre 20 e 22° C. Antes do início do exmerimento com NFZ, cada animal foi examinado mara verificar se não continha oocistos. Durante nossas pesquisas, as fezes foram diàriamente removidas. Todos os exames microscópicos das fezes foram realizados por técnica de centrifugação (enriquecimento do material). Para obter uma orientação sôbre a eliminação, retiramos os oocistos acumulados na superfície da suspensão com alça de platina, colocamos 10 gotas numa lâmina e examinamos com aumento 10 x 10. Consideramos os números 1 até 10 de oocistos por gota como eliminação pequena, acima de 10 até 100 eliminação aumentada e acima de 100 por gota, eliminação grande. Dos animais mortos aproveitamos o conteudo total dos cecos para exame microscópico.

3. *Material infectante:*

De um surto de eimeriose causada por *E. tenella,* as fezes foram coletadas e guardadas em placa de Petri com solução a 2,5% de bicromato de potássio na temperatura ambiente até a esporulação. Esta ocorreu dentro de 48 horas quase total. Depois da lavagem do material em água destilada o sedimento foi centrifugado com solução saturada de sacarose, os oocistos acumulados na superfície foram retirados e outra vez lavados em água destilada. Da suspensão final, bem agitada, colocamos 0,05 cc numa lámina de tamanho 7,5 x 5 cm e cobrimos com lamínula de 32 x 24 mm. O número obtido de oocistos multiplicados por 20 deu aproximadamente o número de oocistos em 1 cc da suspensão. Conseguimos, tanto com 50 000 como também com 18 000 oocistos, produzir uma doença fatal em pintos de 4 semanas. Utilizamos estas quantidades para a infestação artificial de animais em experimentação.

III. RESULTADOS E CONCLUSÕES

1. *Teste da eficiência curativa do NFZ.*

10 pintos, machos e fêmeas, foram infestados no dia 13 de maio com 50 000 oocistos esporulados da *E. tenella* diretamente no inglúvio (QUADRO I). No mesmo dia, 10 pintos receberam a mesma quantidade de oocistos, da mesma maneira (QUADRO II-testemunhas) 10 pintos serviram como animais de contrôle (QUADRO IV-animais não infestados e não tratados). As testemunhas e os animais de contrôle serviam também para o teste da eficiência profilática do NFZ.

No 5.º dia "post infectionem" apareceram os primeiros oocistos e no 7.º dia (20/5) os animais se apresentaram tristes, acumularam-se ao redor da lâmpada, recusaram parcialmente a comida, mas conservaram a vontade de beber. Nas fezes apareceram traços de sangue. A partir dêste dia as aves receberam o NFZ-solúvel na água pelo modo seguinte:

3 dias (20 a 22/5) diàriamente 0,55 g
4 dias (23 a 26/5) diàriamente 0,58 g
5 dias (27 a 31/5) diàriamente 0,72 g
A dose foi calculada para o pêso total dos animais.

Entre os dias 22/5 e 25/5 os animais pioraram, recusaram a comida apresentada mas aceitaram a água de bebida. O exame das fezes revelou merozoitos e oocistos em grande número. A partir do dia 26/5 notamos melhora geral dos animais, o número de merozoitos diminuia nìtidamente, mas a eliminação de oocistos continuava, diminuindo gradualmente cada dia. No dia 31/5 os animais apresentaram aspecto normal, continuando porém a eliminar oocistos em pequeno número. No dia 26/5 morreu um pinto de eimeriose. A partir do dia 6/6 até o fim do experimento não encontramos mais oocistos em animais vivos. No dia 19/6 as aves foram sacrificadas e necropsiadas. Os órgãos não apresentaram alterações macroscópicas, todavia 4 pintos revelaram oocistos em número muito pequeno.

Das testemunhas morreram entre 22/5 e 27/5 oito animais com eimeriose. Os dois sobreviventes dêste grupo, sacrificados no dia 19/6 apresentaram tiflite caseosa com número muito grande de oocistos. Os animais de contrôle (não infestados e não tratados) não apresentaram durante o experimento, sinais de doença, nem o exame das fezes misturadas realizadas duas vezes por semana revelou oocistos. Sacrificados e necropsiados junto com os animais de outros grupos não mostraram alterações anátomo-patológicas, nem foram encontrados oocistos.

Aproveitamos nossas observações para a realização do teste terapêutico com NFZ-solúvel durante um surto de eimeriose no campo. Num parque gramado adoeceram com eimeriose 50 pintos de 2 meses de idade, criados ao ar livre com abrigo para a noite; já haviam morrido 4 animais por eimeriose cecal. Os animais foram divididos em dois grupos iguais e criados separadamente um do outro. Um grupo de animais recebeu o NFZ em 0,165% na água por 5 dias seguidos. Restabeleceram-se 21 animais. Do outro grupo de 23 animais não medicados morrem 20 com eimeriose causada por *E. tenella* isto é 86,9% ao passo que 92,6% dos animais medicados sobreviveram.

QUADRO I

NFZ — Teste da eficiência curativa

NÚMERO E SEXO DAS AVES	PÊSO DOS ANIMAIS EM GRAMAS									Diferença entre o pêso inicial e final	%
	13/5	16/5	20/5	23/5	27/5	1/6	6/6	16/6	19/6		
5438–m.....	135	150	185	207	235	290	330	438	480	345g	255%
4464–m.....	170	205	250	245	265	280	325	380	438	268g	157%
5013–f.....	167	220	275	297	332	360	405	452	560	393g	235%
4450–f.....	166	192	260	282	morreu						
1755–f.....	160	175	230	240	285	310	377	430	458	298g	186%
4803–f.....	161	190	250	258	340	385	425	485	498	337g	209%
4469–f.....	130	164	220	245	295	370	410	445	485	355g	273%
3010–f.....	100	115	150	165	190	210	245	235	262	162g	162%
1870–m.....	142	155	210	243	285	290	320	370	402	260g	183%
4627–f.....	125	150	195	205	235	260	290	330	345	220g	176%
Aumento do pêso em média.....										293g	204%

NOTAS: Dia da infestação 13/5
Dias da medicação 20/5 — 31/5

QUADRO II

NFZ — Testemunhas (animais infectados e não tratados)

NÚMERO E SEXO DAS AVES	PÊSO DOS ANIMAIS EM GRAMAS									Diferença entre o pêso inicial e final	%
	13/5	16/5	20/5	23/5	27/5	1/6	6/6	16/6	19/6		
5316–f.....	175	212	235			moreru 22/5					
3420–f.....	170	200	240	257		morreu 23/5					
5091–m.....	150	193	243	274	319	329	349	367	400	250g	166%
5211–f.....	185	227	290	270		morreu 23/5					
1873–f.....	190	230	280	300		morreu 24/5					
2758–f.....	169	185	235	280		morreu 24/5					
5237–m.....	140	158	220	240		morreu 24/5					
4713–f.....	157	187	220	245		morreu 25/5					
2227–m.....	167	210	235	262		morreu 27/5					
4360–m.....	131	150	195	233	282	292	300	320	328	197g	150%
Aumento do pêso em média.....										223g	158%

NOTAS: Dia da infestação 13/5.
Dias da medicação a partir de 20/5.

QUADRO III

NFZ — Teste da eficiência profilática

NÚMERO E SEXO DAS AVES	PÊSO DOS ANIMAIS EM GRAMAS									Diferença entre o pêso inicial e final	%
	13/5	16/5	20/5	23/5	27/5	1/6	6/6	16/6	19/6		
3544–m.....	133	158	198	235	265	290	360	380	390	257g	193%
1485–m.....	152	180	200	237	265	285	310	340	470	318g	209%
4653–f.....	172	192	233	270	330	387	440	460	525	353g	205%
2044–m.....	130	140	168	207	275	300	380	420	458	328g	252%
3212–m.....	151	181	240	260	325	392	460	537	569	418g	276%
3606–f.....	137	123	156	180	200	230	sacrificado				
3793–m.....	163	188	260	275	340	412	480	575	601	438g	268%
1920–f.....	150	165	210	245	300	365	415	458	473	323g	215%
2377–f.....	135	152	197	242	300	370	422	490	520	385g	285%
4724–f.....	185	205	256	295	368	415	495	573	598	413g	223%
Aumento do pêso em média.....										359g	236%

NOTAS: Dias da medicação: 13 — 15/5, 16 — 19/5, 20 — 22/5, 30 — 31/5 1 — 15/6, 16 — 18/5.
Data da infestação: 16/5, 17/5, 18/5.

QUADRO IV

NFZ — Animais de contrôle (não infectados e não tratados)

NÚMERO E SEXO DAS AVES	PÊSO DOS ANIMAIS EM GRAMAS									Diferença entre o pêso inicial e final	%
	13/5	16/5	20/5	23/5	27/5	1/6	6/6	16/6	19/6		
4166-m.....	116	146	185	206	230	250	310	455	502	386g	333%
2423-m.....	136	140	205	248	300	320	449	480	506	370g	272%
3568-f.....	196	255	275	305	365	394	423	470	550	354g	180%
3719-m.....	140	157	218	246	285	310	340	425	510	370g	264%
4863-f.....	120	137	180	220	245	258	280	324	448	328g	273%
3381-m.....	140	165	185	219	257	297	312	342	378	238g	170%
4948-f.....	125	123	150	170	194	210	225	265	302	177g	141%
1641-f.....	110	147	160	192	238	250	270	310	383	273g	248%
5802-m.....	120	145	190	215	257	282	335	410	447	327g	272%
1487-f.....	115	148	196	210	237	248	270	312	334	219g	190%
Aumento do pêso em média.....										304g	234%

2. *Teste da eficiência profilática do NFZ*

Para evitar a coccidiose é necessário administrar o coccidiostático preventivamente, tão cedo quanto possível, para proporcionar ao animal uma certa proteção. Como o NFZ-solúvel à nossa disposição é indicado como droga terapêutica, a nossa intenção era observar se o mesmo medicamento em doses menores administradas na água durante determinado prazo e aplicado antes da infestação artificial, poderia proteger os animais. Além disso pretendíamos estudar uma eventual ação nociva da droga sôbre os animais durante uma aplicação prolongada.

Para êste fim utilizamos 10 pintos (QUADRO III) e realizamos o nosso teste do modo seguinte:

De 13 a 15/5 o medicamento foi adicionado na água diàriamente com a metade da dose indicada para fins terapêuticos. Nos dias 16, 17 e 18/5 cada animal foi infestado com 18 000 oocistos esporulados da *E. tenella,* recebendo assim cada pinto aproximadamente em total 48 000 oocistos. Sturne[37] em seus estudos, conseguiu já com 6 000 oocistos produzir uma doença fatal.

A medicação foi realizada da seguinte maneira:

3 dias (13 a 15/5)	diàriamente 0,18 g antes da infestação
4 dias (16 a 19/5)	" 0,2 g
3 dias (20 a 22/5)	" 0,25 g
7 dias (30 a 31/5)	nenhum medicamento
2 dias (30 a 31/5)	diàriamente 0,36 g
15 dias (1 a 16/6)	" 0,42 g
3 dias (16 a 18/6)	" 0,5 g

A quantidade da droga era sempre calculada para o pêso total dos animais.

Os primeiros oocistos apareceram em número pequeno no 5.º dia após a primeira infestação, aumentando diàriamente até o 9.º e 10.º dias com aparecimento de merozoitos, não mostrando porém as aves sinais acentuados de

doença. Apenas 3 pintos se apresentaram tristes, conservando porém a vontade de comer e beber. A partir do 11.º dia "post infectionem" a eliminação de oocistos diminuiu até 29-5, data em que os animais se mostraram livres de oocistos. No dia 1/6 um animal foi sacrificado é necropsiado, apresentando os órgãos normais com presença de alguns oocistos.

Continuamos a adicionar o NFZ na água até 18/6 e sacrificamos os animais no dia seguinte. 2 pintos revelaram oocistos em quantidade muito pequena sem alterações nos casos e nos outros órgãos. Em 10 gotas da suspensão do conteudo cecal depois da centrifugação com solução saturada de cloreto de sódio, apenas 4 gotas apresentaram um oocisto. O resto dos animais dêste grupo não revelaram oocistos e mostraram órgãos macroscòpicamente normais.

3. *Teste da eficiência profilática com Nicrazina.*

Utilizamos pintos de raça New Hampshire de ambos os sexos com idade de 3 dias, divididos em 4 grupos de 15 animais. O 1.º grupo serviu para o teste com Nicrazina a 12,5%, o 2.º com Nicrazina 25%, o 3.º como testemunha e o 4.º de contrôle, (não infestado e não tratado) QUADROS V, VI, VII e VIII. Preparamos conforme a instrução a ração profilática do modo seguinte: Fizemos uma mistura preliminar com 5% de Nicrazina a 12,5% com a própria ração. Esta foi adicionada em concentração de 2% com a ração definitiva que serviu como alimento preventivo para os animais do 1.º grupo. Os pintos do 2.º grupo receberam a ração, preparada com ração preliminar em concentração 1%. As testemunhas e os animais de contrôle receberam ração normal.

QUADRO V

Teste da eficiência profilática com Nicrazina 12,5%

NÚMERO E SEXO DAS AVES	PÊSO DOS ANIMAIS EM GRAMAS					Diferença entre o pêso inicial e final	%
	1/8	4/8	11/8	22/8	25/8		
6238–f.....		56	66	198	198	142g	253%
4946–f.....		67	103	155	177	110g	164%
5163–f.....		58	78	121	129	71g	122%
4529–f.....		61	84	130	137	76g	124%
3638–f.....		58	85	125	132	74g	127%
4725–m.....		62	82	122	131	69g	111%
4024–m.....		58	94	133	145	87g	150%
121–f.....		55	morreu de acidente				
4658–m.....		62	96	160	170	108g	174%
1321–m.....		67	101	159	168	101g	155%
4625–f.....		64	89	143	150	86g	134%
943–m.....		62	91	152	165	103g	166%
795–f.....		60	87	124	130	70g	116%
3551–f.....		48	73	103	115	67g	139%
3519–f.....		60	78	133	144	84g	140%
Aumento do pêso em média.....						89g	148%

NOTAS: Dias da administração do medicamento 4/8 — 22/8.
Dia da infestação 10/8.

QUADRO VI

Teste da eficiência profilática com Nicrazina 25%

NÚMERO E SEXO DAS AVES	PÊSO DOS ANIMAIS EM GRAMAS					Diferença entre o pêso inicial e final	%
	1/8	4/8	11/8	22/8	25/8		
3333–m		53	70	136	153	100g	188%
1747–m		51	69	122	146	95g	186%
2966–m		60	80	135	164	104g	173%
5491–m		46	58	67	77	31g	67%
5713–f		62	89	morreu			
2644–f		56	87	138	164	108g	192%
4582–f		57	78	107	124	67g	117%
1054–f		52	72	130	160	108g	207%
828–f		52	70	105	122	70g	134%
4531–f		59	71	138	160	101g	171%
6326–m		60	81	158	177	117g	195%
2469–f		50	75	140	160	110g	220%
2477–f		47	65	97	110	63g	134%
1034–f		50	79	117	137	87g	174%
6228–m		62	86	morreu			
Aumento do pêso em média						89g	166%

NOTAS: Dias da administração do medicamento 4/8 — 22/8.
Dia da infestação 10/8.

QUADRO VII

Teste da Nicrazina-testemunhas (infestados e não tratados)

NÚMERO E SEXO DAS AVES	PÊSO DOS ANIMAIS EM GRAMAS					Diferença entre o pêso inicial e final	%
	1/8	4/8	11/8	22/8	25/8		
6216–m		60	90	morreu	16/8		
636–m		51	76	morreu	17/8		
2938–f		57	83	morreu	17/8		
3722–f		62	99	95	98	36g	58%
6363–f		46	70	morreu	17/8		
723–m		64	96	morreu	16/8		
2655–f		55	74	morreu	17/8		
6346–m		55	80	morreu	17/8		
3728–m		63	84	morreu	16/8		
4500–f		50	77	morreu	17/8		
4117–f		55	80	morreu	17/8		
4196–f		55	84	morreu	17/8		
1769–m		55	83	morreu	16/8		
6241–f		55	72	98	103	48g	87%
3341–m		52	87	morreu	16/8		
Aumento do pêso em média						42g	72%

NOTA: Dia da infestação 10/8.

QUADRO VIII

Animais de contrôle (não infestados e não tratados)

NÚMERO E SEXO DAS AVES	PÊSO DOS ANIMAIS EM GRAMAS					Diferença entre o pêso inicial e final	%
	1/8	4/8	11/8	22/8	25/8		
411-f.....		55	77	130	155	100g	181%
3377-f.....		55	75	133	155	100g	181%
4728-m.....		60	79	139	164	104g	173%
2037-f.....		55	78	129	150	95g	172%
4634-m.....		50	73	134	157	107g	214%
5518-m.....		55	76	125	145	90g	161%
4963-m.....		69	107	166	185	116g	168%
3329-f.....		62	75	103	118	56g	90%
211-f.....		68	79	157	165	97g	142%
4620-f.....		57	90	158	190	133g	233%
1954-f.....		59	77	153	167	108g	183%
2346-m.....		48	70	107	120	72g	150%
753-f.....		48	65	115	130	82g	170%
1396-m.....		52	75	129	150	98g	188%
5515-f.....		60	90	148	170	110g	183%
Aumento do pêso em média.....						97g	172%

A ração profilática foi administrada durante 7 dias. No dia 10/8 os animais do teste foram infestados com 18 000 oocistos esporulados de *E. tenella,* quantidade, que provocou em testes preliminares doença fatal em pintos da mesma idade. A medicação continuou até o dia 22/8. No dia 17/8 apareceram traços de sangue nas fezes, sem manifestarem os animais alteração em seu comportamento. Nos dias 16 e 17/8 morreram 2 pintos do grupo Nicrazina a 25% com eimeriose aguda, os outros sobreviveram até o fim do experimento sem apresentar sinais de doença. Dos pintos do grupo Nicrazina a 12,5% não morreu nenhum e os animais se apresentaram normais em seu comportamento. Das testemunhas morreram 13 animais nos dias 16 e 17/8 com eimeriose. Os 2 pintos sobreviventes se recuperaram lentamente. No 4.º (contrôle) não houve doença nem mortalidade.

No dia 25/8 foram sacrificados todos animais da experimentação. 7 pintos do grupo Nicrazina 12,5% revelaram oocistos em quantidade muito pequena; em 8 pintos não encontramos o parasita. Os órgãos eram de aspecto normal. Dos animais do grupo Nicrazina a 25%, todos se mostraram livres de oocistos, com órgãos normais. Os sobreviventes do grupo de testemunha revelaram tiflite caseosa com número elevado de oocistos. Os animais de contrôle se apresentaram totalmente normais.

IV. DISCUSSÃO

Na instrução apresentamos uma informação geral sôbre a eficiência de nitrofuranos e da nicarbazina. A nossa intenção era porém verificar, se os medicamentos existentes no mercado, com as concentrações indicadas na bula, produzem o mesmo efeito curativo ou profilático da droga.

A bula manda misturar 35 g do NFZ-solúvel em 20 000 cc de água, o que corresponde a uma concentração de 0,175% ou 0,008% da substância básica, admitindo a concenaração 4,59% de Furazina. Por outro lado, a dose diária do NFZ-solúvel ingerida pelas aves devia ser aproximadamente 242 mg por quilo de pêso vivo. Conforme êste cálculo, para 100 aves com pêso total de 22,7 quilos, deviam ser adicionadas diàriamente 5,5 g de medicamento na água de beber.

Seguimos em nossos experimentos esta recomendação adaptando-a para número de 10 animais. Como as nossas condições não permitiam realizar um teste quantitativo do medicamento a respeito do verdadeiro conteúdo da substância básica, aproveitamos a prova qualitativa. Pelas nossas observações, a reação de côr com hidróxido de sódio a 10% é tão sensível, que mesmo em presença de traços de nitrofurazona na ração ou na água, se mostrou nìtidamente visível. Com esta prova verificamos a presença de nitrofurazona no medicamento.

Embora a reação de côr identifique a presença de nitrofuranos numa droga ou numa ração preventiva, nem sempre aqueles se acham na concentração necessária para produzir um efeito curativo ou profilático. Assim poderemos explicar durante a rotina de testes de produtos com nitrofurazona, e não funcionamento dêstes medicamentos, decorrente de pouca quantidade da substância básica. Pois mesmo na própria reação qualitativa, nós aquilatamos a concentração dos nitrofurazonas pela reação mais ou menos intensa.

No experimento curativo adicionamos por 12 dias o NFZ em concentrações de 0,09% até 0,12% o que correspondia a uma concentração de 0,004% — 0,006% da substância básica e conseguimos salvar 90% dos animais doentes. Estas doses correspondem aproximadamente àquelas que foram indicadas pelos outros autores citados na introdução.

Convém recordar que pela bibliografia a dose máxima de Furazina é de 0,07% o que corresponde a 1,7% do NFZ. A dose de 0,1% de Furazina correspondente a 2,2% do NFZ já considerada como tóxica.

Em nosso experimento o aumento do pêso em animais medicados era no fim em média apenas 11 g inferior ao das aves de contrôle, apesar da diminuição da vontade de comer durante 4 dias.

No teste da profilaxia administramos o NFZ por 10 dias começando com a aplicação 3 dias antes da infestação artificial. A concentração era 0,03% — 0,04% o que correspondia a uma solução de 0,001% — 0,002% de Furazina (nitrofurazona). Com esta dose preventiva impedimos o aparecimento da moléstia e a mortalidade. Também pela interrupção da medicação os animais não apresentaram alteração em seu comportamento. Reiniciada a adição do medicamento por 20 dias com a dosagem do NFZ a 0,06% — 0,08% respectivamente com 0,002% — 0,005% da substância básica, a droga não se mostrou nociva para as aves.

O rendimento em pêso dêstes animais foi superior ao rendimento dos animais submetidos ao tratamento curativo, provàvelmente em conseqüência da menor manifestação clínica após a infestação. Em comparação com as aves de contrôle, o aumento médio do pêso em gramas era também maior. Conseguimos efeito profilático embora usando concentrações inferiores às citadas na introdução.

A Nicrazina com 12,5% de nicarbazina administrada na ração por 20 dias em pintos já com 3 dias de idade, protegeu-os contra a infestação sem que os animais manifestassem sintomas acentuados de doença; todos sobreviveram a infestação. Dos animais medicados com Nicrazina 25% morreram 2 ao passo que das testemunhas morreram 13. Os animais tratados com Nicrazina 12,5% ganharam em média 89 g, de grupo Nicrazina a 25% 89 g e os de controle 97 g.

Shumard e Evelth [35] verificaram que pintos de 6 semanas de idade não infectados e não tratados com nicarbazina ganharam durante os 18 dias do experimento 207% do seu pêso inicial. Pintos infestados e tratados com a droga ganharam 158%. Em nosso experimento com Nicrazina a 0,0125% de nicarbazina os animais não infestados e não tratados ganharam 172% e os infestados e tratados 164%. As drogas por nós testadas mostraram-se eficientes como meio preventivo sem prejudicar as aves em sua evolução, de acôrdo com os resultados obtidos por outros autores. Como já foi mencionado, a vantagem do emprêgo da nicarbazina consiste em reprimir a produção de oocistos. Por êste motivo diminue a acumulação de oocistos eliminados na cama e a possibilidade da reinfestação. Nesses experimentos coroados de sucessos foram realizados com tôdas precauções higiênicas. Os coccidiostáticos nunca substituem a higiene, elas apenas protegem o animal contra a ação das formas evolutivas do parasita ou diminuem notàvelmente a eliminação dos oocistos. Concordamos com Siegmann [36], que a eficiência dum cocidiostático depende da qualidade da droga e do poder de reduzir a eliminação de oocistos. Não devemos esquecer do papel importante representado pela temperatura e a umidade.

Tornou-se atual o problema da resistência de diversas espécies de eimérias contra os coccidiostáticos. É bem possível, que as drogas em questão, em concentração baixas, aplicadas durante prazo prolongado e em contato com as formas evolutivas do parasita, provocam nos protozoários uma resistência. Assim Waletzky e Hughes [38] conseguiram isolar de 3 pintos uma amostra de *E. tenella* resistente contra Sulfaquinoxalina e Sulfadimidina, mas não contra nitrofurazonas. Cuckler e Malanga [6] ao contrário referém também uma resistência de eimérias contra esta droga. Entre numerosas amostras os autores — positivaram que 43% se mostraram resistentes contra nitrofenidos, 45% contra Sulfaquinoxalina e 57% contra nitrofurazonas. É interessante mencionar, que se conseguiu efeito terapêutico com nicarbazina em tôdas amostras de eimérias resistentes contra as drogas mencionadas. Conforme Siegmann [33] não fica esclarecido, se se trata de amostras com resistência primária (resistência natural) ou se a resistência foi provocada pelo quimioterapêutico. Conhecendo-se êstes fatos, uma mudança de coccidiostáticos é recomendável.

CONCLUSÕES

Pelas nossas experiências o NFZ-solúvel com 4,59% de Furazina (nitrofurazona) adicionado em concentrações de 0,09% — 0,12% na água por 12 dias em pintos com a idade de 28 dias a partir dos primeiros sintomas de doença, tem ação curativa contra a eimeriose causada pela *E. tenella*. Sobreviveram 90% dos animais infestados.

Em concentração de 0,03% — 0,04%, o NFZ, aplicado na água 3 dias antes da infestação e continuado mais 7 dias produz efeito profilático, evitando pràticamente 100% a mortalidade. O medicamente em concentração de 0,06% — 0,08% administrado por 20 dias não se mostrou nocivo para as aves.

Uma prova química com hidróxido de sódio a 10% permite verificar a presença de nitrofurazona no medicamento ou na ração, declarada como preventiva.

Uma ração profilática com Nicrazina a 0,0125% de nicarbazina, administrada 3 dias antes da infestação e continuada por mais 9 dias após, protegeu 93% de pintos com 3 dias a 22 dias sem prejudicar a evolução normal dos animais.

V. RESUMO

O autor estudou a eficiência do NFZ-solúvel com 4,59% de Furazina (nitrofurazona) e da Nicrazina (nicarbazina) como meios terapêuticos e profiláticos em pintos infestados com a *Eimeria tenella*.

O NFZ em percentagem de 0,09% — 0,12% administrado na água, se mostrou eficaz salvar 90% das aves infestadas.

Em percentagem de 0,03% — 0,04% aplicado preventivamente evitou quase 100% a mortalidade.

A Nicrazina com 0,0125% de nicarbazina adicionada na ração protegeu 93% dos animais infestados,

VI. AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Prof. Dr. Leonhard Riedmuller, Chefe da Seção de Zoonoses Bacterianas do Instituto de Biologia Animal pela sua valiosa orientação; ao Dr. Guilherme Geissner, Chefe da Seção Química e Farmacologia, pelos esclarecimentos referentes à parte química; ao Dr. Victor Fidely Lapagesse, Chefe da Seção de Ornitopatologia pela compreensão e boa vontade e ao Instituto de Zootecnia do Ministério da Agricultura pelo fornecimento das aves e da ração.

STUDIES ON EIMERIOSIS OF POULTRY. I. EXPERIMENTS WITH COCCIDIOSTATICS

Abstract

The author studied the efficiency of soluble NFZ with 4,59% Furazin (nitrofurazone) and of Nicrazin (nicarbazin) in the prophylaxis against *Eimeria tenella* of chicken.

NFZ in a percentage of 0,03-0,04% applied prophylactically prevented the mortality almost 100%.

Nicrazin with 0,0125% nicarbazin additioned to the feed protected 93% of the infested animals.

VII. REFERÊNCIAS

1) BARBER, C.W. (1950).—Nicarbazin in the Prevention of Coccidiosis in Chickens. *Cornell Vet., 45:* 360-366.

2) BLOUNT, W.P. (1955).—Recent Advances in Poultry Therapeutics. *The Vet. Rec., 67:* 939-1104.

3) COVER, M.S.; W.J. & GILL, E. (1955).—Studies of Hemorrhagic Syndromas in Chickens. *Cornell Vet., 45* (3): 366-368.

4) CREMER, M. (1957).—Die Kokzidiose der Hühnerkücken im Lichte deutscher und ausländischer Forschung. *Inauguraldissertation an der Veterinär-Medizinischen Fakultät der Justus Liebig-Hochschule, Giessen.*

5) CUCKLER, A.C. & MALANGA, C.M. (1955).—The Effect of Nicarbazin on Avian Coccidia. *J. Parasit., 41* (6). Cit. por RUEBEN (33).

6) CUCKLER, A.C. & MALANGA, C.M. (1955).—Studies of Drug Resistence in Coccidia. *J. Parasit., 41:* 302-311.

7) CUCKLER, A.C.; MALANGA, C.M. & OTT, W.H. (1956).—The Antiparasitic Activity of Nicarbazin. *Poult. Sci., 35:* 98-109. Cit. por RUEBEN (33).

8) DAVIES, S.F.M. (1954).—Intoxicações em pintos com coccidiose, tratados com sufonamidas. *Palestra apresentada no X Congresso de Avicultura, Edinburgh.* Sections papers, pag. 275-278. Cit. por CREMER (4).

9) DODD, M.C. & STILLMAN, W.B. (1944).—The in Vitro Bacteriostatic Action of Some Simple Furan Derivates. *J. Pharm. Exp. Ther., 82:* 11.

10) DOOREN, F. VAN (1950).—Een niew middel tegen een oude Kwaal nitrofurazone in de strjd tegen coccidiosis. *Pluimvee, 4:* 999. Cit. por RUEBEN (33).

11) FARR, M.F. & WEHR, E.E. (1945).—Sulfamerazine Therapy in Experimental Cecal Coccidiosis of Chickens. *J. Parasit., 31:* 353-358.

12) FRITSCHE, K. (1954).—Versuche über die Bekämpfung der Geflügelkokzidiose mit Sulfonamiden und Nitrofurazon. *Archiv für Geflügelkunde, 18:* 228-236. Cit. por RUEBEN (33).

13) GORDON, CHUB & STACY (1953).—Nitrofurazone in Poultry Rations. *Vet. Rec., 65:* 575. Cit. por RUEBEN (33).

14) HARWOOD, P.D. & STUNZ, D.I. (1949).—Nitrofurazone in the Medication of Avian Coccidiosis. *J. Parasit., 35:* 175-182.

15) HARWOOD, P.D. (1956).—Clinica aplications of Nitrofurans — Past and Present. *lst National Symposium on Nitrofurans in Agriculture, Michigan State University, East Lansing, Michigan,* pags. 12-23.

16) HAWKINS, P.A. & KLINE, E.E. (1945).—The Treatment of Coccidiosis with Sulfametrazine. *Poult. Sci., 24:* 277.

17) HORTON-SMITH, C. & BOYLAND, E. (1946).—Sulphonamides in the Treatment of Cecal Coccidiosis of Chickens. *Brit. J. Pharm and Chem., 1:* 139. Cit. por CREMER (4).

18) HORTON-SMITH, C. & LONG, P.L. (1953).—Os parasitas das aves e seu combate. *Palestra* apresentada em Paris durante o Congresso Internacional *para Fomento da Avicultura na Europa.* Cit. por CREMER (4).

19) JUNGHERR & WINN (1949).—Continuous Level Sulphaquinoxalina Feeding in the Practical Control of Coccidiosis in Broilers. *A. of the N.Y. Acad. of Sci., 52:* 429-624. Cit. por RUEBEN (33).

20) JOHNSON, C. (1956).—The Efficacy of Soluble Furacin Mix Veterinary against Cecal Coccidiosis. *Palestra apresentada no 45.º Congresso Anual de Poultry Science em North Carolina State College, Raleigh, North Carolina.* Cit. por ROBERTS & NATT (30).

21) LEVINE, P. P. (1940).—The Effect of Sulfapyridine on Experimental Avian Coccidiosis. *J. Parasit., 26:* 337-343.

22) LEVINE, P., P. (1939).—The Effect of Sulphonamide on the Course of Experimental Avian Coccidiosis. *Cornell Vet., 28:* 309-320.

23) MINNERS, P. (1954).—Vitamina A- und Jungtierkrankheiten. *Inauguraldissertation an der Veterinär-Medizinischen Fakultät der Justus Liebig-Hochschule, Giessen.*

24) NEIVA, C. (1953).—*Formulário de Terapêutica Veterinária.* Serviço de Informação Agrícola, Min. gricultura, Rio de Janeiro.

25) OSOL, A. & FARRAR, G. (1955).—*The Dispensatory of the United States of America,* 25 th Edition. J.B. Lippincott Company, Philadelphia, Montreal, pg. 899.

26) OTT; KUNA; PORTER & CUCKLER (1955).—Biological Studies on Nicarbazin, a New Anticoccidial Agent. *Poult. Sci., 34:* 1215.

27) OTT; PORTER; KUNA & CUCKLER (1956).—Biological Studies on Nicarbazin, a New Anticoccidial Agent. *Poult. Sci., 35:* 1335.

28) PETERSON, E.H. (1948).—The Effect of Sulfoquinoxalin Medication on *Eimeria tenella.* Infection in Chickens. *Vet. Res., 9:* 77.

29) REIS, J. & NÓBREGA, P. (1956).—*Tratado de Doenças das Aves.* Vol. III, Ed. Melhoramentos, São Paulo, pg. 135.

30) ROBERTS, H.D.B. & NATT, M.P. (1958).—Control y prevencion de la coccidiosis de las aves con NFZ-soluble administrado en agua de bebida. *Ciencias Veterinarias, 3:* (5): 1-8. Separata.

31) ROBERTS, H.D.B. (1958).—New Horizons in Chemoterapy. *Proceedings of the First Regional Conference on the Nitrofurans in Veterinary-Medicine, Wilmongton, Delaware*

32) RUBIN; MCLOUGHLIN; COSTELLO & WEHR (1956).—The Efficacy of Nicarbazin as Phophylactic Drug in Cecalcoccidiosis of Chickens. *Poult. Sci., 35:* 856.

33) RUEBEN, S. (1958).—Experimentelle Untersuchungen zur praktischen Anwendung der Immunitätsverhältnisse bei der Hühnerkokzidiose mit einer Darstellung der Chemotherapie. *Inauguraldissertation an der Veterinär-Medizinischen Fakultät der Justus Liebig- Hochschule, Giessen.*

34) SCHOLTYSECK, E. (1955).—Therapieversuche und histologische Untersuchungen zur Geflügelcoccidiose. *Zbl. Bakt.,* Org. I. 163. Cit. por RUEBEN (33).

35) SHUMARD & EVELTH (1956).—A Report on the Coccidiostatic Actions of Nicarbazin in Chickens Experimentally Infected with *E. tenella. Veterinary Medicine, 51* (3): 114.

36) SIEGMANN, O. (1959).—Zur Frage der Kokzidiostatika und der Kkzidientherapie. *Berl.-Münch. Tierärztl. Wschr., 72* (2): 30-31.

37) STURNE, E. (1954).—Prophylaxie und Bekämpfung der Kokzidiose bei Hühnerkücken mit Coccidin, Sulphaquinoxalin und Nitrofurazon. *Inauguraldissertation an der Veterinär--Medezinischen Fakultät der Justus Liebig-Hochschule, Giessen.*

38) WALETZKY & HUGHES (1949).—Factors Involved in Testes for Acquired Immunity in *E. tenella* Infections of the Chickens. *A. of N.Y. Acad. of Sci.:* 429-624. Cit. por RUEBEN (33).

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 29-37
1961 — Min. Agricultura, Brasil

ESTUDOS SÔBRE A EIMERIOSE EM AVES

II. CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA EPIZOOTIOLOGIA *

WILHELM BRADA **

I. INTRODUÇÃO

Os oocistos de eimérias, produtos finais da evolução endógena do protozoário, eliminados pelas fezes dos animais doentes e esporulados fora do hospedeiro, são as fontes primárias da propagação da moléstia.

Diversos pesquisadores examinaram a possibilidade duma transmissão da eimeriose pelas formas evolutivas do ciclo endógeno do parasita. Levine [7] conseguiu uma infestação em pintos livres de cocciodiose, introduzindo merozoitos da *Eimeria maxima, E. hagani, E. precox* e *E. necatrix* no inglúvio. Também merozoitos da *E. tenella* introduzidos no intestino delgado ou nos cecos provocaram a doença, o que não ocorreu com merozoitos injetados no inglúvio. Haug [4] em suas experiências positivou também o fato, que a infestação primária e a reinfestação não pode ocorrer apenas pelos oocistos esporulados, mas também pela ingestão de merozoitos eliminados em grande número pelas fezes. Mellmann [8] confirmou o fato já conhecido de que galinhas adultas podem ser fontes eliminadoras de oocistos e a transmissão da moléstia para os pintos é provocada pelo homem ou pela poeira. O autor demonstrou também o papel importante das moscas como meio da propagação da eimeriose.

Êstes insetos, depois da ingestão de oocistos presentes nos excrementos de galinhas adultas que passam inalterados o trato digestivo, contaminam alimentos e água para beber e apresentam assim fontes da transmissão da moléstia para animais sensíveis. Por outro lado, moscas, com oocistos esporulados presos nos membros, ingeridos pelos animais sensíveis podem provocar a eimeriose. O mesmo acontece com insetos que contêm oocistos esporulados dentro do seu trato digestivo e são ingeridos pelos pintos. O autor verificou também que a coccidiose que sempre aparecia regularmente durante 15 anos em animais da experimentação no laboratório dum instituto, parou, quando os animais foram criados separadamente de galinhas adultas e também quando os pintos foram protegidos contra moscas.

No que concerne ao ovo como fonte da infestação, as opiniões de diversos pesquisadores diferem. Tyzzer [13] em suas experiências achou, que nas condições da chocadeira, os oocistos perdem ràpidamente sua capacidade infestante. Ellis [3] afirma que a viabilidade dos oocistos nas condições normais de umidade e temperatura da incubadeira não vai além de 1 a 2 dias. Herrick [5]

---

* Êste trabalho foi realizado sob os auspícios do Conselho Nacional de Pesquisas. Entregue para publicação em 3 de março de 1961.

** Da Seção de Ornitopatologia do Instituto de Biologia Animal, Rio de Janeiro, e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

entretanto afirma, ter obtido infestação de pintos, fazendo ingerir cascas de ovos propositadamente contaminados com oocistos e incubados durante 3 semanas em chocadeira com alto teor de umidade relativa.

Podvissotsky [9] observou coccidias na clara de ovos provenientes de lugares contaminados pelo protozoário. Os aglomerados dos oocistos formaram massas brancas que atingiram o tamanho de uma cabeça de alfinete. Braga e Sousa [1] também encontraram coccidias na clara de ovos de galinhas e admitem que a infestação se dá no oviduto, quando o óvulo recebe a camada de albumina tendo as coccidias invadido o oviduto por via ascendente, vindo da cloaca.

A eimeriose aparece durante o ano inteiro. Por falta dum registro exato da doença é difícil chegar a uma conclusão sôbre a verdadeira distribuição da doença a respeito de número dos casos em comparação com os meses do ano. É da observação de todos criadores, a irrupção de surtos violentos da eimeriose na época mais quente do ano, principalmente após chuvas [11]. Em São Paulo a doença tem o acme de distribuição nos meses de outubro e novembro [11], em Kansas em abril, maio e junho [9] Nos Estados Unidos ela é mais freqüente nos meses de maio a agôsto [2]. Na Europa, a maioria dos casos aparece nos meses de maio, junho e agôsto, provàvelmente por causa das condições favoráveis nesta época para evolução exógena de oocistos [10].

Com nossos estudos queremos dar ao conhecimento:

1.º As nossas observações a respeito da freqüência da eimeriose nos diferentes meses,

2.º apresentar os resultados obtidos de nossos experimentos realizados sôbre a possível infestação de pintos de um dia pela casca artificialmente contaminada com oocistos,

3.º apresentar os resultados de experimentos com oocistos esporulados introduzidos dentro da clara de ovos embrionados,

4.º verificar o comportamento de oocistos esporulados introduzidos dentro da gema.

II. MATERIAL E MÉTODOS

Para averiguar relações climáticas com a freqüência da eimeriose, obtivemos os dados climáticos do Observatório Metereológico do Ministério da Agricultura no km 47 e comparamo-los com o número de casos de eimeriose diagnosticados.

Os ovos fecundados, de casca branca de galinhas da raça Leghorn foram fornecidos pelo Instituto de Zootecnia do Ministério da Agricultura, situado na área do km 47 da antiga rodovia Rio-São Paulo.

Como incubadeira utilizamos chocadeira elétrica com capacidade para 60 ovos marca "Popular" 100/volt. Como fonte de umidade foi usada uma prateleira de metal de tamanho 30 por 30 e de altura de 3 cm, cheia de água.

Como material infestante usamos uma suspensão de oocistos não esporulados e esporulados em bicromato de potássio a 2,5% em temperatura ambiente. Trabalhamos com dois grupos de ovos dos quais um grupo servia como testemunha.

Os animais nascidos foram removidos após a eclosão para caixas de papelão, cobertas por tela de arame com malhas finas, e alimentados durante a observação com ração inicial esterilizada em forno, recebendo água esterilizada em autoclave. A ração foi completamentada com suplemento de vitaminas A, D e B.

Nas experiências sôbre a possibilidade da infestação pela clara e pela gema infestadas artificialmente com oocistos, a suspensão do material infestante foi tratada com penicilina e estreptomicina. O exame microscópico foi realizado em forma de esfregaços finos respectivamente da clara e da gema.

III. RESULTADOS

1. *Observações sôbre a freqüência da eimeriose durante 6 anos em comparação com as condições climáticas.*

Como a literatura refere-se a relações entre condições climáticas e a freqüência da eimeriose, tentamos em nossas investigações verificar tais relações.

Pelas nossas observações, a eimeriose mostrou incidência mais elevada no mês de novembro e mais baixo no mês de março (Quadro I). A temperatura máxima foi registrada sempre no mês de janeiro e a mínima no mês de julho. As chuvas atingiram no mês de março o ponto mais alto e no mês de julho o ponto mais baixo. A umidade relativa oscilava entre 82 em abril e 73 no mês de agôsto (Quadro II).

O quadro I demonstra também, que o aumento de casos de coccidiose coincide com a elevação da umidade relativa do ar.

Devemos levar em conta também a possibilidade de latência da enfermidade provocada às vezes por modificações de sua patogenicidade ou por alterações de condições do ambiente, de ser responsável por tais fatos o que é freqüentemente observado em outras epizootias e endemias (anos ricos e anos pobres em epizootias por exemplo).

Pelos dados anuais observamos que o ano 1954 era mais rico em eimeriose e o ano 1958 o ano mais pobre (Quadro III). A temperatura máxima no ano 1954 era 29,3°C em média, a temperatura mínima 19,4°C, e no ano 1958 29,4 e 17,9 respectivamente. As precipitações pluviométricas foram registradas de 1 099 mm no ano 1954 e de 1 390 mm no ano 1958, sendo a umidade relativa 75 no ano 1954 e 77 no ano 1958, de modo que não verificamos uma correlação digna de nota entre as condições climáticas e a moléstia.

2. *Experimentos com casca de ovos embrionados contaminados artificialmente com oocistos e a resistência de oocistos na incubadeira.*

Para obter experiências próprias sôbre a possibilidade da contaminação de pintos de um dia por intermédio de oocistos na casca, realizamos dois experimentos da seguinte maneira:

Contaminamos a casca de 10 ovos fecundados com uma suspensão de oocistos esporulados em bicromato de potássio. Como material infestante utilizamos oocistos da *E.* tenella, esporulados dentro de 48 horas. Por meio duma pipeta Pasteur colocamos gotas da suspensão sôbre a casca. A suspensão continha ainda restos de bicromato de potássio para distinguir melhor os pontos contaminados. Após 21 dia de permanência na chocadeira, no dia da eclosão os pintos, antes de receberem alimento ou água, foram infestados com as cascas contaminadas, trituradas antes em gral estéril e criados depois da remoção da chocadeira sob condições, para se evitar uma contaminação acidental. No 13.º dia após a infestação os animais ficaram tristes, no 14.º dia comprovamos traços de sangue nas fezes, no 15.º dia 2 animais morreram de coccidiose aguda. No 16.º dia o resto dos animais foi sacrificado. Todos apresentaram tiflite com merozoitos e oocistos da *E. tenella* no conteúdo cecal.

O mesmo número de ovos (testemunhas) da mesma procedência com casca não contaminada permaneceu numa outra chocadeira e depois da eclosão os pintos foram criados separadamente sob as mesmas condições dos animais do 1.º grupo. Não apresentaram durante nossas observações sintomas de doença e sacrificados junto com os pintos do 1.º grupo se mostraram com órgãos normais e livres de coccidias.

Conseguimos então infestar pintos de um dia com casca contaminada artificialmente com oocistos esporulados após a permanência dos ovos fecundados

por 21 dias na incubadeira, enquanto com casca não contaminada os animais de contrôle não adoeceram.

Um segundo experimento foi realizado com oocistos da *E. tenella* não esporulados, coletados de pintos que sucumbiram da eimeriose. Após 21 dias da permanência dêsses ovos na chocadeira os pintos nascidos foram infestados e criados da mesma maneira como os do experimento com oocistos esporulados. Os animais observados durante 18 dias não apresentaram sintomas clínicos de eimeriose e sacrificados no 10.º, 14.º e 18.º dia se apresentaram normais sem oocistos ou formas evolutivas da eiméria.

Enquanto no experimento com oocistos esporulados era possível provocar a doença em pintos de um dia, com oocistos não esporulados não conseguimos infestar os animais. As condições da chocadeira aparentemente não se mostraram favoráveis para a maduração de oocistos localizados na casca do ovo.

3. *Experimentos com oocistos esporulados introduzidos na clara de ovos fecundados.*

Como é de se supor a possibilidade de durante os movimentos peristalticos do oviduto em sentido contrário, os oocistos localizados dentro da cloaca em aves adultas poderiam invadir o oviduto por via ascendente, e envolvidos pela clara do ovo, mais tarde provocar uma infestação do embrião, efetuamos um experimento nesse sentido.

Para evitar contaminações bacterianas tratamos a suspensão de oocistos com penicilina e estreptomicina e fizemos a prova de esterilidade da suspensão que se mostrou estéril. Inoculamos ovos embrionados de 7 dias. Infelizmente morreu a maioria dos embriões já após 3 dias da inoculação e apenas 4 pintos nasceram normais, sem revelar formas evolutivas ou formas de resistência do parasita.

Para completar este experimento introduzimos uma suspensão de oocistos esporulados diretamente dentro do oviduto duma galinha em plena postura. Foram introduzidos 20 000 oocistos e examinados os ovos postos após a inoculação. No primeiro ovo pôsto não verificamos oocistos na clara e em 3 ovos seguidos encontramos oocistos na clara em número muito pequeno.

4. *Experimentos com oocistos introduzidos dentro da gema em ovos embionados.*

Embora não aceitável a possibilidade da membrana da gema sob circunstâncias naturais ser penetrada por coccidias, realizamos um experimento, injetando oocistos esporulados de *E. tenella* diretamente no saco da gema de ovos embrionados de 7 dias, para estudar o comportamento dos oocistos neste meio. Injetamos aproximadamente 3 200 oocistos tratados por penicilina e estreptomicina. Entre o 1.º e 10.º dia após a inoculação morreram 5 embriões de 10 inoculados. Dentro da gema encontramos os oocistos introduzidos. O resto dos embriões nasceu normal e ficou sob observação durante 10 dias após a eclosão. O exame microscópico das fezes foi realizado diàriamente sem se encontrar oocistos. No 10.º dia os animais se apresentavam doentes. Um pinto foi sacrificado e necropsiado. Verificamos o saco vitelino atrofiado, os cecos dilatados com conteúdo escuro e espumoso com grande número de oocistos não esporulados. No dia seguinte foram sacrificados os restantes animais e revelaram as mesmas lesões com grande número de oocistos não esporulados nos cecos. Os oocistos coletados e após a esporulação introduzidos em pintos de um dia provocaram a eimeriose dentro 8 dias.

Com êste experimento comprovamos que oocistos introduzidos dentro da gema conservaram o seu poder evolutivo e infestante.

IV. DISCUSSÃO

É de conhecimento geral que depois de anos pobres em coccidiose aparecem anos em que a moléstia aparece mais freqüente, causando graves prejuízos nas criações. Pelo resumo de nossas observações podemos afirmar que a maior freqüência dos casos de coccidiose no ano 1954 era determinada em primeiro lugar pelo maior número dos exames das aves, em conseqüência do aparecimento da doença de New Castle neste ano, quando os criadores enviaram mais aves para exame para diagnosticar esta epizootia. O declínio da eimeriose a partir do ano 1957 se explica sem dúvida pelo aumento da aplicação de coccidiostáticos como meio profilático. Na análise sôbre a incidência da eimeriose aviária durante 1953-1958 não encontramos outros fatores que pudessem efetivamente justificar uma maior ou menor ocorrência anual da doença.

Os nossos registros sôbre as condições climáticas e a freqüência de coccidiose revelam certa correlação da umidade relativa do ar com o acréscimo ou declínio de número de casos, como demonstram nìtidamente os dados dos meses de junho á dezembro quando a incidência da moléstia é maior. Fora dessas influências atmosférica o aparecimento da enfermidade em maior número durante esta época do ano parece ser ligada em primeiro lugar com a época da postura orientada pelos criadores por fatôres econômicos, como acontece também em outros países. As influências diretas das chuvas e da temperatura, na criação moderna não deviam apresentar mais o papel importante como na criação sob circunstâncias naturais anteriormente usada. Em baterias isoladas do meio exterior, a propagação da moléstia se dá em primeiro lugar pelo manêjo inadequado que favorece a evolução e a distribuição do protozoário.

Como atualmente é admitida a transmissão da eimeriose por meio de oocistos maduros presentes nos alimentos, na água etc., realizamos alguns experimentos que pudessem explicar outras possibilidades da transmissão, como por exemplo pela casca de ovos contaminados por oocistos ou pela contaminação da clara de ovo. Os nossos experimentos mostram, que a casca contaminada por oocistos esporulados pode provocar a infestação de pintos, nascidos destes ovos incubados na chocadeira. Esta verificação experimental é ainda apoiada pelas nossas observações, onde diagnòsticamente a eimeriose em pintos da idade menos de 8 dias acompanhada por casos de morte nestes animais. Se existe durante a incubação artificial de ovos, a possibilidade da infestação de pintos nos primeiros dias da vida pela casca contaminada, tanto mais podemos admitir a possibilidade duma infestação de pintos pelos ovos procedentes de galinhas eliminadoras de oocistos e incubados em condições naturais.

Por outro lado verificamos que cascas de ovos contaminados com oocistos não esporulados e ingeridos pelos animais recem nascidos não provocaram a doença e que os oocistos não madurecem sob condições da chocadeira.

Em alguns experimentos queríamos elucidar a questão, se oocistos presentes dentro da cloaca duma galinha em postura, subindo no oviduto pelo seu movimento em sentido contrário, podiam fazer com que a clara do ovo se tornasse a fonte infestante para os embriões. Surpreendentemente morreu a maioria dos embriões depois da inoculação e nos sobreviventes não conseguimos encontrar oocistos ou suas formas evolutivas. Mesmo introduzindo 20 000 oocistos esporulados dentro do oviduto, encontramos apenas em 3 ovos oocistos na clara em número muito pequeno, de modo que na prática não podemos contar com esta maneira da transmissão da doença.

*M*ais em virtude do interêsse científico sôbre o comportamento dos oocistos no saco da gema, realizamos experimentos no sentido, de transmitir oocistos esporulados na gema de ovos embrionados e verificamos que durante a permanência dos ovos até a eclosão, os oocistos conservaram sua capacidade evolutiva e infestante e provocaram a doença em pintos nascidos dêstes ovos.

V. CONCLUSÕES

Em nosso caso apareceram certas relações entre a umidade relativa do ar e a freqüência da eimeriose.

Durante o prazo de nossas observações não encontramos fatôres peculiares, que pudessem justificar uma maior ou menor ocorrência anual da doença.

Uma infestação de pintos nascidos de ovos com casca contaminada por oocistos esporulados é possível.

As condições da chocadeira não favorecem o amadurecimento de oocistos não esporulados.

Uma infestação de pintos recem nascidos pelos oocistos presentes na clara do ovo na prática é pouco provável.

Oocistos esporulados introduzidos artificialmente no saco da gema em ovos embrionados, conservam durante a incubação a sua capacidade evolutiva e infestante para pintos de um dia.

VI. RESUMO

O autor apresenta nêste trabalho sôbre a eimeriose aviária observações a respeito das relações entre influências atmosféricas e a freqüência da moléstia, dá ao conhecimento os resultados obtidos sôbre a possível transmissão da eimeriose pela casca do ovo ou pela clara contaminados artificialmente com oocistos e sôbre o comportamento de oocistos introduzidos na gema de ovos embrionados.

VII. AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Prof. Dr. Leonhard Riedmüller, Chefe da Seção de Zoonoses Bacterianas do Instituto de Biologia Animal pela sua orientação e preciosos conselhos, e ao Observatório Meteorológico do Ministério da Agricultura pelos dados climáticos fornecidos.

STUDIES ON EIMERIOSIS OF POULTRY. II. CONTRIBUTION TO THE STUDY OF THE EPIZOOTIOLOGY

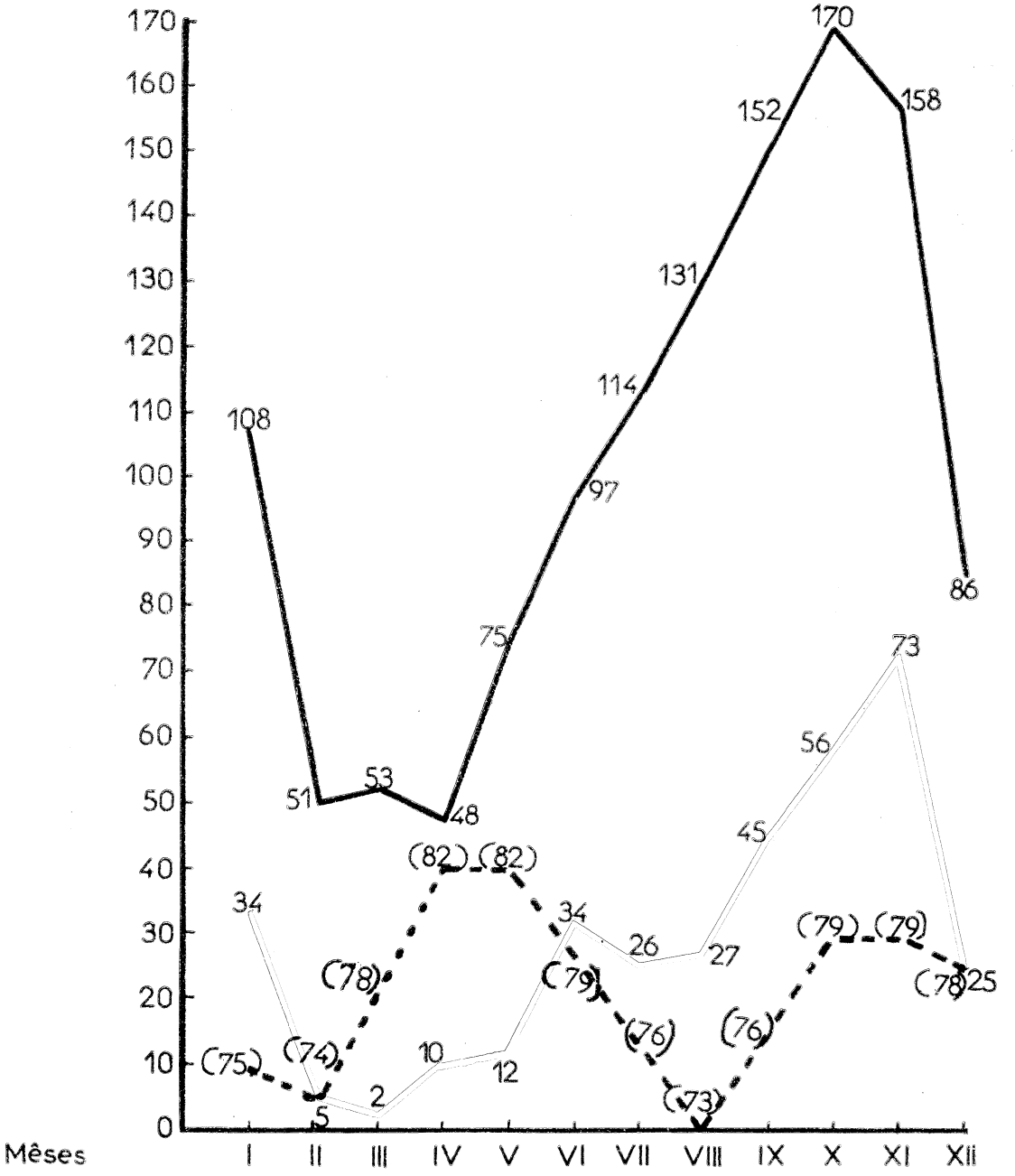
Abstract

The author describes his experiments on the atmospheric influences on the frequency with which the disease occurs. He describes the results obtained attempting to transmit eimeria through the shell of the egg. He describes the behaviorcf the oocysts, introduced into the yolk of embrionated eggs.

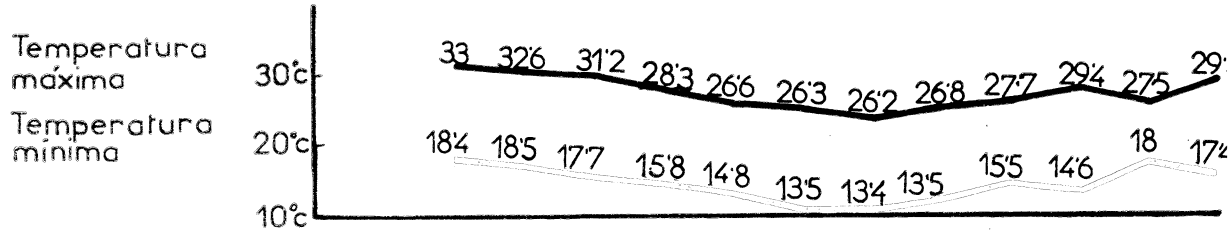
VIII. REFERÊNCIAS

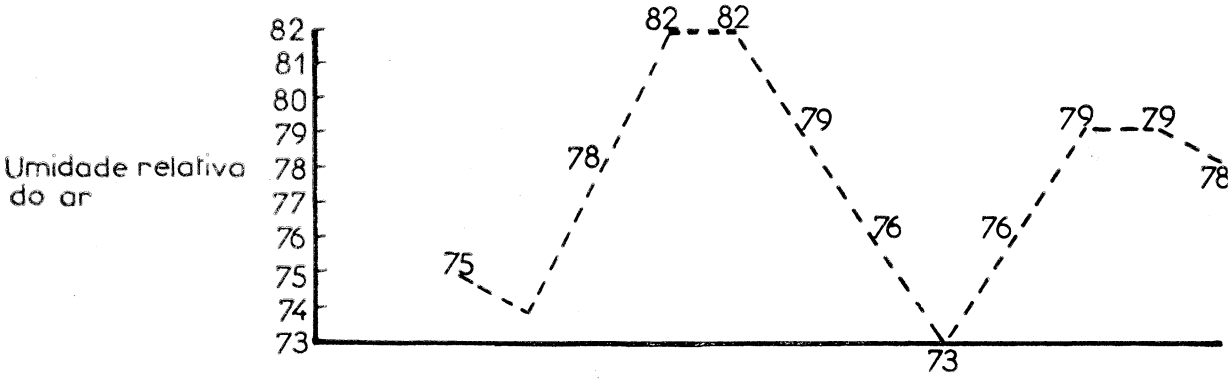
1) Braga, A. & Souza, M. (1930). — Coccidiose das aves com especial referência à presença de oocistos no albune dos ovos. *Rev. Zootecnia e Vet., 16* (2): 88-98.
2) Durant & Mc Dougle (1938). — M. Agr. Star Bul. 411. Cit. em Reis & Nóbrega (11), pg. 108.
3) Ellis (1938). — Cornell Vet., *28*: 264. Cit. por Reis & Nóbrega (11), pg. 167.
4) Haug, P. (1949). — Experimentelle Untersuchungen zur Sulfonamidtherapie bei der Huehnerkokzidiose mit einer Darstellung unserer Kenntnisse ueber die Krankheit und ueber die Sulfonamide. *Inauguraldissertation an der Veterinaer-Medizinischen Fakultaet der Justus Liebig-Hochschule Giessen.* Cit. por Schmid & Wack (12).
5) Herrick, C.A. (1935). — Resistance of the Oocysts of *Eimeria tenella* to Incubater Conditions. Poult. Sci., *14* (4). Reprint.
6) Hinshav & Bushel (1927). — *Jour. Am. Vet. Med. Ass., 24*: 764. Cit. por Reis & Nóbrega (11), pg. **135.**
7) Levine, P.P. (1940). — The Initiation of Avian Coccidial Infection with Merozoites *Jour. Parasit., 26*: 337.
8) Mellmann, G. (1954). — Beitrag zur Frage der Infektionswege der Huehnerkokzidiose. *Z.f. angewandte Zoologie, 41*: 139-134.
9) Podvissotsky. Cit. por Reis & Nóbrega (11), pg. 129.
10) Reinhardt, R. (1950). — *Lehrbuch der Gefluegelkrankheiten.* Verlag M. & H. Schaper, Hannover, pg. 140.
11) Reis, J. & Nóbrega, P. (1956). — *Tratado de Doenças das Aves.* Vol. III, Ed. Melhoramentos, São Paulo, pg. 108.
12) Schmid, D.O. & Wack, P. (1955). — Experimentelle Untersuchungen zur Therapie der Gefluegelkokzidiose mit Diazil vet. Cilag. *Z.f. Tropenmedizin, 6*: 437-425.
13) Tyzzer, E.E. (1937). — Coccidiosis in Gallinaceous Birds. *Jour. Am. Ve. Med. Ass., 43*: 341.

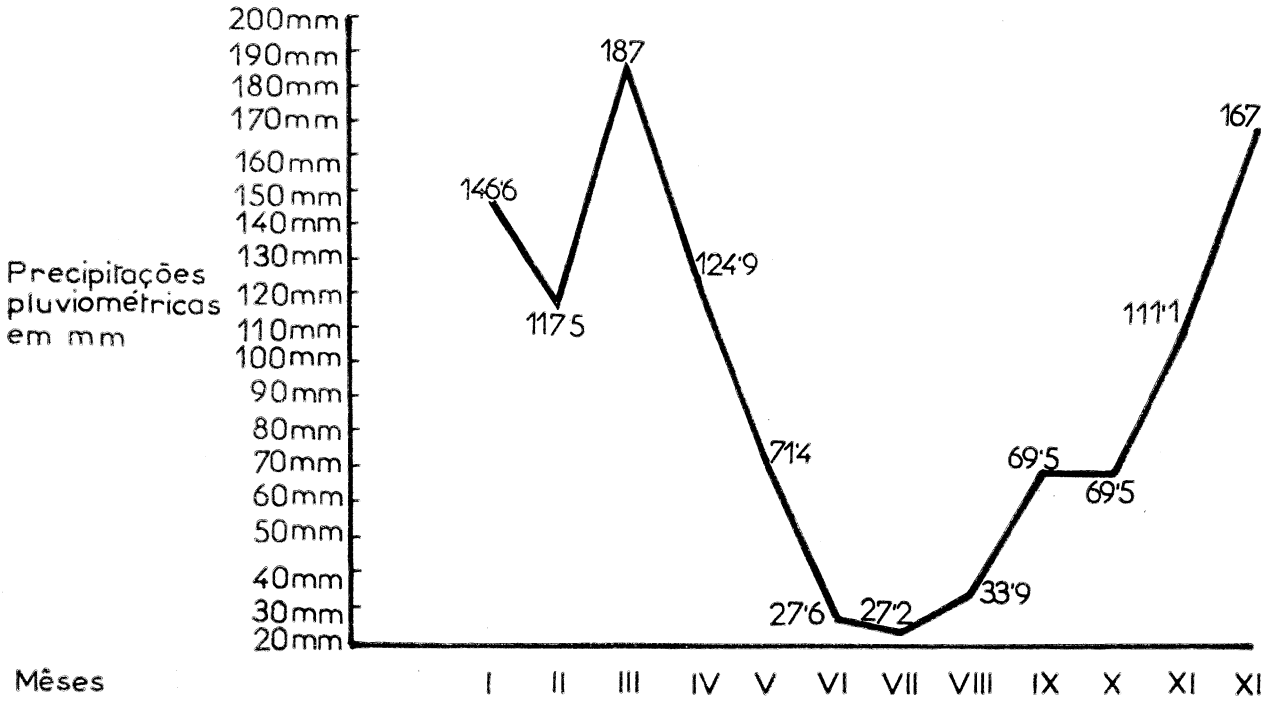
Quadro I. Frequência mensal da eimeriose durante 6 anos



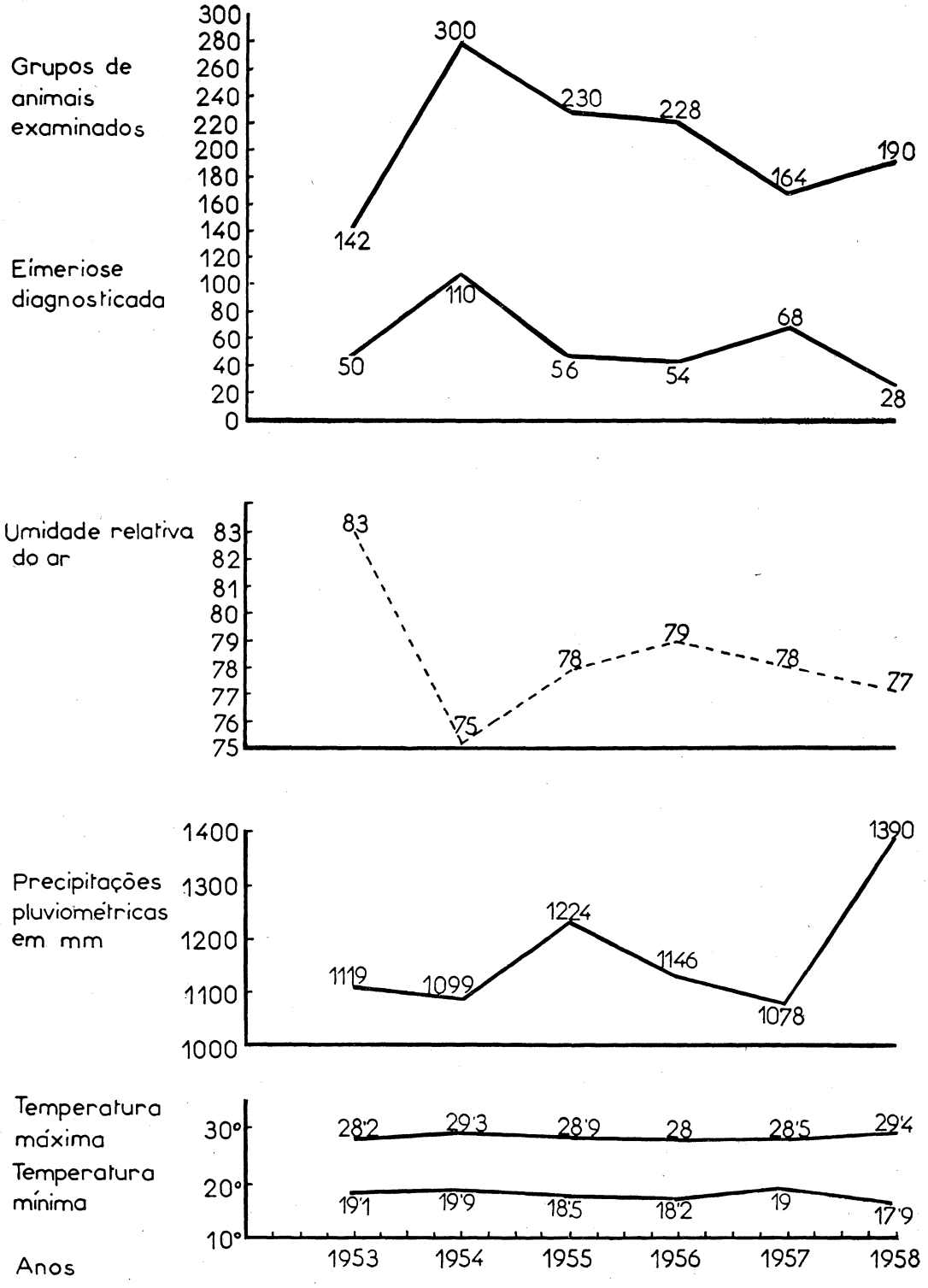
Quadro 11. Dados climáticos mensais durante 6 anos







Quadro III. Frequência anual da eimeriose com dados climáticos



Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 39-48
1961 — Min. Agricultura, Brasil

SALMONELOSE FATAL (?), POR SALMONELA DERBY, EM PORCO DOMÉSTICO (SUS SCROFA DOMESTICUS)

VICENTE LEITE XAVIER * e MARIA CHARLOTTE E. H. LANGENEGGER **

I. INTRODUÇÃO

Estudando Peckham (1923), em Derby (Inglaterra), um surto de toxi-infecção alimentar em pessoas que haviam ingerido pastéis de carne de porco, foi levado a isolar duas estirpes bacterianas (uma encontrada num dos pastéis, outra na água de um tanque pertencente às dependências em que os pastéis haviam sido preparados). Sôbre elas diz Peckham (1923):... "The two strains of bacilli were identical in all their reactions and closely resembled *B. Gaertner*. They could only be distinguished from. *B. Gaertner* by absorption tests as shown later in the Report"... As referidas amostras foram enviadas a Savage e White (1925) que as identificaram, dando-lhes a denominação de: tipo Derby. São de Savage & White (1925) estas palavras:... "Later we received from Mr. Peckham of Derby two altogether similar strains "Derby Pie" and "Derby Tank" isolated from a pork pie and a butcher's tank during the investigation of an outbreak of food poisoning at Derby... this new form is therefore best referred to as the Derby tipe"... No ano seguinte, White (1926) estuda as relações sorológicas entre o *B. enteritidis* e o tipo Derby. Em 1931, registrando Kauffmann (1931) investigações sôbre o "paratifo", faz considerações a respeito dos diversos "tipos" relacionados com o assunto, apresenta uma tabela (Kauffmann e Mitsui) onde aparece o tipo Derby como integrante do grupo B (IV) e sôbre êste tipo diz, ainda: "Der ebenfalls zur B-Gruppe gehoerende monophasische Derby-Typus, der ausser einem thermolabilen Sonderreceptor den Receptor g der Gaertner-Typen besitzt, wurde bisher in Deutschland noch nicht nachgewiesen. In England wurde er wiederholt bei akuter Gastroenteritis festgestellt (Peckham, Bruce White)". No esquema Kauffmann White, para classificação dos representantes do gênero *Salmonella,* inclui Kauffmann (1934) a *S. derby* no grupo B, atribuindo-lhe a seguinte fórmula antigênica: IV: f.g: —. Hormaeche e cols. (1936) publicam o resultado dos seus trabalhos, iniciados dois anos antes, sôbre estudo etiológico das diarréias de verão e, dentre as salmonellas encontradas como agentes dêsses distúrbios, figura a *S. derby*. Estudando os antigênios "O" de 13 estirpes de *S. derby,* pôde Kauffmann (1937) dividi-las em dois grupos, um dêles portador do antigênio I, outro carente dêsse fator. Analisando a incidência de salmonelas nas aves dos U.S.A., Edwards (1939) verifica ocorrer, entre elas, a *S. derby*. Gordon & Gauger (1941) isolam, do sangue cardíaco, do fígado e do baço, de uma corça jovem (fawn), uma estirpe de *Salmonella,* identificada por Edwards à *S. derby*. Varela & Zozaya (1941) isolam, no México, de gânglios mesentéricos de porcos normais, a salmonela em aprêço. Rubin e cols. (1942) encontram a *S. derby* em porcos aparentemente hígidos. Galton & Quan (1943) reconhecem a referida

* Da Escola Nacional de Veterinária e do Instituto de Biologia Animal — M. Agricultura (Brasil).

** Do Instituto de Biologia Animal — M. Agricultura (Brasil).

salmonela, isolando-a de *Homo sapiens,* na Flórida. Varela e Giron (1943) registram o isolamento da *Salmonella derby* que encontram em porcino, causando enterite. Pestana & Rugai (1943), pesquisando salmonelas em gânglios de porcos aparentemente normais, em São Paulo (Brasil), encontram, além de outras, a *S. derby*. Registrando observações realizadas nos quatro anos anteriores a 1943, Seligmann & Hertz (1944) assinalam a ocorrência, em Nova-York (Beth Israel Hospital), da *Salmonella derby,* encontrada em recém-nascidos e crianças doentes (gastrenterite). Dentre os 48 tipos de *Salmonella* encontrados em aves e referidos por Hinshaw e cols. (1944), encontra-se a *S. derby*. De casos de distúrbios gastro-intestinais em crianças da capital de São Paulo (Brasil), Taunay e cols. (1945) isolam a salmonela de que vimos tratando, além de shigelas e de outras salmonelas. Nesse mesmo ano, Leite Ribeiro (1945) isola, no Rio de Janeiro (Brasil), mediante hemocultura e semeadura de material do baço, uma estirpe de *S. derby*. Monteverde e cols. (1945), trabalhando em Buenos Aires (Argentina), pesquisam salmonelas em fezes de bovinos sãos e conseguem identificar, ao lado de outras, a *S. derby*. É também nesse ano que Neiva (1945) registrou o resultado de suas pesquisas em São Paulo (Brasil). Trabalhou com gânglios e fezes de porcos normais, abatidos para o consumo público, tendo isolado 147 amostras de *Salmonella;* dentre os tipos encontrados figura a *S. derby*. Outra publicação sôbre a salmonela em estudo é a de Levine e cols. (1945) que a encontram em porcinos doentes (amostras identificadas por Edwards). Ainda em 1945, Vaccaro e cols. (citação de Buxton (1957) encontram a *S. derby* em aves. Em 1946, Seligmann e cols. (1946), dão conta das pesquisas que vinham fazendo sôbre casos de infecção por *Salmonella* em *Homo sapiens*. Entre os 46 diferentes tipos que assinalam como responsáveis por êsses casos, está a *S. derby*. Peluffo e cols. (1946) assinalam a ocorrência da *S. derby,* em casos de diarréias infantis, em São Paulo (Brasil). Estudando Solowey & cols. (1947) a microbiologia do ovo em pó, isolam, dêsse material, 52 diferentes tipos de *Salmonella,* encontrando-se, entre êles, a *S. derby*. No ano seguinte, Edwards e cols. (1948), registrando o resultado de suas atividades no campo do reconhecimento e tipagem de *Salmonella,* mostram ter sido a *S. derby* isolada de *Homo sapiens* e das seguintes espécies: peru; galinha; pato; aves de caça; boi; "outros ruminantes" (excluídos o boi e o carneiro); porco; gato; "outros carnívoros" (excluídos o cão, a rapôsa e o gato); faisão e corça (fawn). Noronha Peres (1948), em seu trabalho de tése, consigna o isolamento da *S. derby, em* Belo-Horizonte (Minas-Gerais — Brasil), mediante exame de material de suíno. Refere-se também à tipagem de amostras da mesma *Salmonella,* isoladas no Instituto de Higiene (Montevidéu — Uruguai), de material humano (fezes e sangue). Em 1949, Buxton e Field (1949) registram a ocorrência de *S. derby* em bovino (inclusive na bile) e aves. Nesse mesmo ano, Field (1949), examinando 2 552 amostras de bile bovina, isolou 276 culturas de *Salmonella,* entre elas reconhecendo a *S. derby*. Segundo Buxton (1957), Atkinson e cols. (1949) isolam a *Salmonella* em aprêço, de porco e camundongo. Ainda em 1949, Bruner & Moran (1949) referem o isolamento da *S. derby,* dos seguintes animais: *Mustela vison* (espécie de marta), camelo e corça jovem (fawn). Entre abril de 1949 e abril de 1950, Galton e cols. (1950) isolam, de cão doméstico, numerosos tipos de salmonela, notando-se a elevada incidência da *S. derby*. Registrando casos fatais (humanos) de salmonelose, assinala Saphra (1950) dois dêles, ocasionados pela *S. derby*. Nesse mesmo ano, pelo menos os seguintes autores publicam sôbre isolamento da *S. derby*: Watt & de Capito (1950) (fontes: *Homo sapiens;* cão; gato e galinha); Nordberg & Ekstam (1950) (fonte: pintos); Hormaeche e cols. 1950) (fontes: *Musca doméstica; Cochliomya; Lucília* e *Paralucília*); Planet do Amaral e cols. (1950) (fonte: fezes de crianças); Yoshio Aoki (1950) (fonte: *Homo sapiens*); Perez & Vaccaro & cols. (1950) (fonte: porco doméstico); Perez & Vaccaro & Gutierrez (1950) fonte: (gânglios mesentérisos de

equinos); Vaccaro & Perez & Fernandez (1950) (fonte: carne e vísceras frescas de porcinos); Vaccaro e cols. (1950) (fonte: cadáveres humanos). Varela e cols. (1951), dando à luz o resultado de suas pesquisas que visavam ao isolamento de salmonelas e shigelas, consignam a ocorrência da *S. derby,* em cão doméstico, no México. Em 1951, a salmonela em aprêço é também encontrada em cães e gatos por Meridian (1951). Pesquisando salmonelas em ratos (*Mus norwegicus*), em Baltimore, Md. (U.S.A.), Huan-Ying Li & David E. Davis (1952) isolam, dêsse roedor, a *S. derby*. Saphra & Marquez (1952) registram o isolamento da *S. derby,* dos seguintes casos: inflamação ou empiema da vesícula; inflamação do trato urinário; meningite; salpingite e parametrite; pneumonia e pleurisia; abscessos. Varela e Olarte (1952) isolam a *S. derby* de: homem, porco, boi, cão, ave e leite, durante a realização de trabalhos sôbre pesquisa de salmonelas, na cidade do México. De um surto de doença, em gansos de oito semanas de idade, Mc Carty (1953) isola um microrganismo identificado por Moran à *S. derby*. Esta salmonela é encontrada em porcino, na Pérsia, por Neel e cols. (1953). Nesse mesmo ano, encontra Pumarola (1953) a *S. derby,* em gânglios de porcinos aparentemente sãos, sacrificados no Matadouro Municipal de Barcelona. Ainda em 1953, encontram Mann e cols. (1953) a *S. derby, em* gânglios mesentéricos de gato. Informa Buxton (1957) que Blaxland, em 1953, isola a referida salmonela, de ave. Galton e cols. (1954) verificam a freqüente ocorrência da *S. derby* em porcino (intestinos) e nos arredores dos matadouros. No mesmo ano, Galton e cols. (1954) encontram a citada salmonela, em salsichas frescas e ditas defumadas, preparadas com carne de porco. Ainda em 1954, Kraneveld & cols. (1954) isolam a *S. derby,* de porco doméstico, em Java. Assinalando a relativa freqüência de salmonelas do grupo B, causadoras de gastrenterite em crianças, em Saigon, Chambon y cols. (1955) registram, entre elas, a *S. derby*. Êsses mesmos autores, no mesmo trabalho (1955) ainda informam ter sido a salmonela em aprêço isolada, em Saigon, de porco e cão domésticos. Fulton e cols. (1956) assinalam o isolamento da *S. derby* que encontram em cães e gatos. Identificando salmonelas isoladas de animais doentes, no Estado de Nova-York (U.S.A.), encontra Bruner (1956), entre outras, a *S. derby*. Registrando a ocorrência de "tipos" de *Salmonella,* na Austrália, Atkinson (1956) assinala, entre os mais freqüentes, a *S. derby*. Em pesquisas sôbre transdução bacteriana realizadas por Bailey (1956), utiliza êsse autor, entre outras, a *S. derby*. Sutmoller & Kampelmacher (1957), trabalhando nas Antilhas Holandesas, registram a ocorrência da *S. derby,* em *Homo sapiens*. Estudando a incidência de shigelas em sêres humanos, na Guatemala, Mata (1957) encontra algumas salmonelas, entre as quais a *S. derby*. Procurando determinar a prevalência de *Salmonella* e *Shigella* em agrupamentos humanos, Beck e cols. (1958) trabalham, na Guatemala, e publicam o resultado de suas pesquisas mediante cultura de fezes de crianças com idade compreendida entre o nascimento e dez anos. Na lista das salmonelas encontradas, figura a *S. derby*. No quadro em que registram os "tipos de *Salmonella* isolados na Zona da Mata de Pernambuco", Maroja e cols. (1959) incluem a *S. derby* ao lado de mais trinta e dois "tipos", por êles (Maroja e cols., 1959) identificados. Heather & Bárbara Nobles (1960), pesquisando salmonelas em alimentos para cães, conseguem isolar, entre outras, a *S. derby*.

II. MATERIAL E MÉTODOS

Recebemos da Seção de Anatomia Patológica do Instituto de Biologia Animal os pulmões de um suíno, para exame bacteriológico (pesquisa de enterobactérias). As principais lesões assinaladas no órgão, segundo laudo daquela Seção, foram: "solidificação dos lobos apicais e focos branco-amarelados que atingiam até 5 cm de diâmetro, sediados nas partes crânio-ventrais dos lobos diafragmáticos; lesões

extensas e sugestivas de necrobacilose na base da língua e na faringe; gânglios retro-faringeanos aumentados de volume, de coloração rósea (ao corte), com manchas esbranquiçadas; intestino grosso com ulceração da mucosa (úlceras arredondadas, com bordos elevados e centro necrótico, de côr amarela, medindo até dois centímetros de diâmetro)". Informações relativas ao quadro clínico, pràticamente não existiam. Sabia-se, apenas, que o leitão, "após vacinado e revacinado com a vacina "cristal violeta" contra a peste suina, adoeceu (?) e, quando era transportado para o Instituto de Biologia Animal, veio a falecer".

O material em aprêço (fragmentos de várias zonas dos pulmões) foi devidamente triturado em gral, com ajuda de areia estéril, suspenso em salina e semeado em placas de Endo e em ditas de Kristensen e cols. Além disso, como de rotina, plantou-se a suspensão no meio de Mueller (caldo-tetrationato) mod. por Kauffmann. Devidamente incubados (37°C), deram êsses meios origem a crescimentos bacterianos. Nas placas, as colônias não fermentadoras da lactose, cresceram pràticamente em estado de pureza. Do meio de enriquecimento tomou-se semente que foi espalhada nos meios sólidos de rotina, acima referidos (Endo e Kristensen & cols.), obtendo-se, após 24 horas de incubação, colônias perfeitamente semelhantes às que surgiram nas duas primeiras placas (semeaduras diretas).

De cada uma das placas preparou-se uma suspensão (2-3 colônias) em salina estéril. Misturada esta, em proporção e condição adequadas (prova rápida), com um sôro polivalente para reconhecimento de possíveis representantes do gênero *Salmonella,* verificou-se aglutinação típica dentro de alguns segundos. Colônias do mesmo aspecto foram "pescadas" dessas placas e semeadas em tubos de agar-simples, conseguindo-se, após 20 horas de incubação, quatro culturas, correspondendo, respectivamente, o crescimento de cada tubo ao que se assinalara em cada uma das placas. Verificada a fase em que se encontravam essas culturas, realizaram-se provas rápidas com o sôro polivalente, tendo-se obtido resultado indicativo da possibilidade de se tratar de vegetações do gênero *Salmonella*. Com as mesmas suspensões bacterianas (quatro) relativas às culturas prèviamente referidas, passamos à tentativa de determinação dos antigênios de "grupo". Resultado: tôdas deram aglutinação rápida e bem nítida com o sôro *4, 5, 12* e, posteriormente, com os fatôres *4* e *1,* tendo-se demonstrado negativas as provas com os fatôres *5* e *27*.Tais resultados foram confirmados por provas lentas. Isto pôsto, despresamos três dos tubos em aprêço (até agora mantidos, diante da possibilidade da existência de mais de um "grupo" ou "tipo") e prosseguimos o estudo da amostra isolada, com apenas uma cultura. Foi esta passada em meio semi-sólido (motilidade!) e nos meios apropriados ao estudo das características morfológicas, tintoriais, culturais e bioquímicas. Após incubação conveniente, foram essas culturas sendo aproveitadas e interpretadas, de acôrdo com a técnica bacteriológica aplicável ao caso. Assim, o meio semi-sólido demonstrou tratar-se de uma bactéria móvel. A partir dêsse meio, obtivemos cultura em caldo simples, que, transformada em antigênio (mistura com salina formolada), se prestou à determinação da constituição flagelar da provável *Salmonella*.

Considerando os resulttados da sorologia somática e louvando-nos em protocolos relativos a tipagem de amostras anteriormente isoladas em nosso laboratório, pensamos, de imediato, na possibilidade de estarmos trabalhando, ou com a *Salm. typhi-murium* ou com a *Salm. bredeney* (embora privadas, respectivamente, dos fatôres *5* e *27*). A nossa suspeita não foi, porém, confirmada. Passamos, então, a utilizar os outros sôros indicados para reconhecimento de "tipos" mais freqüentes do grupo B. Foi aí que notamos aglutinação rápida e total (cinco minutos) com o sôro *f, g* e aglutinações parciais (depois de uma hora de incubação) com os sôros: *g, m* & *g, t,* todos êles utilizados na diluição

final de $\frac{1}{1000}$. Nestas condições, impunha-se o preparo do fator puro *f*, para maior precisão da tipagem. Partindo de um sôro *f, g* (procedente do Communicable Disease Center — Atlanta, Ga. — Prof. Edwards), conseguimos, mediante absorção do anticorpo *g*, o fator puro *f*. Com êste sôro e mais os fatôres puros *m, s* e *t*, efetuamos novas provas de aglutinação, figurando como antigênio a salmonela em estudo. O resultado foi positivo, rápido e total (leitura aos quinze minutos de incubação) para o fator *f*, sendo negativo para os outros sôros.

As demais características e propriedades da *Salmonella* em aprêço podem ser assim resumidas: microrganismo de morfologia variante entre bacilar e cóco-bacilar, móvel, Gram-negativo, de crescimento fácil, sem cápsula e sem esporo. Não hidroliza a gelatina, nem a uréia; não produz indol, nem acetil-metil-carbinol; tem capacidade sulfidrígena (H^2S:+) e é V. M — positivo. Fermenta, produzindo ácido e gás, os seguintes substratos: glucose, xilose, arabinose, trealose, ramnose, dulcitol e inositol. Não ataca: sucrose, lactose, salicina e adonitol. Utiliza o tartarato (dextrógiro e inativo), o citrato de sódio e o ácido múcico.

III. RESULTADO

As características morfológicas e tintoriais, bem como as propriedades culturais, bioquímicas e sorológicas acima consignadas induzem-nos a considerar a salmonela estudada uma estirpe da *Salmonella derby*, de conformidade com o esquema Kauffmann-White, para reconhecimento e tipagem dêsse grupo de microrganismos. Trata-se de uma salmonela monofásica, com a seguinte constituição antigênica: *1, 4, 12*: *f, g*:—, como ficou anteriormente demonstrado.

IV. COMENTÁRIO

A presente contribuição vem, indiretamente, confirmar trabalhos patrícios dos investigadores que nos antecederam neste campo de pesquisas e registrar, pela primeira vez entre nós, um provável caso mortal de salmonelose porcina, por *Salmonella derby*. A possibilidade da ocorrência dessa salmonelose em animais domésticos, no Brasil, tem sido prevista desde que a *S. derby* foi aqui assinalada em suínos (Pestana, 1943), em *Homo sapiens* (Leite Ribeiro, 1945) e encontrada em gânglios de suínos aparentemente sãos (Neiva, 1946). (Isto para não se levar em conta a literatura exótica que mostra a notável freqüência da referida salmonela, em suínos).

No caso por nós relatado, a sintomatologia da doença não pôde ser convenientemente observada. Soube-se, entretanto, que o leitão em tela tinha sido vacinado e revacinado com a vacina "cristal violeta" contra a peste suína. Além disso, a Seção de Anatomia Patológica (I.B.A. — Ministério da Agricultura) assinalou, no intestino grosso, úlceras arredondadas, com bordos elevados e centro necrótico, além de lesões, comparáveis às da necrobacilose, assestadas em outras vísceras.

Como se vê, as informações do clínico sôbre vacinação, as lesões verificadas à necrópsia, mais os resultados do exame bacteriológico dão ensejo a que se pense num quadro de salmonelose, agravado, posteriormente, pela associação do *Sphaerophorus necrophorus* (*Actinomyces necrophorus*) encontrado, com certa freqüência, no intestino de porcos aparentemente normais e, comprovadamente, capaz de agravar os episódios de entorite infecciosa (ou necrótica) ocasionada pela *Salmonella cholerae-suis* (Murray e cols. (1928); Biester e cols. (1928).

Lamentamos não nos ter sido possível apresentar um trabalho mais completo onde figurasse a determinação da fonte infecciosa. Esta lacuna, porém, sóe aparecer até em publicações de autoridades no assunto e é, até certo ponto, compreensível, senão perdoável. Como se sabe, entre o recebimento do material suspeito (nem sempre acompanhado de informações precisas e minuciosas) e o reconhecimento e tipagem da salmonela medeiam alguns dias; a seguir, vem as etapas de comunicação ao interessado (criador, técnico responsável pela criação, veterinário-clínico, médico, enfermeiro, etc.) e de um inquérito mais esclarecedor do caso em aprêço. Estas providências, por vários e óbvios motivos, consomem certo tempo e o resultado do inquérito mostra mais comumente que a fonte infecciosa ou se encontra em rebanho estranho (importação de animais) ou se acha na mesma criação, ligada a portadores (homens ou animais) ou, ainda, relacionada com alimentos e água contaminados. De um modo ou de outro, cumpre a efetivação de novos exames bacteriológicos à base de novo material. Exatamente êste é o ponto crucial da questão, em virtude de êsse material depender, muitas vêzes, diretamente de duas fontes principais: o animal doente (a esta altura nem sempre existente porque o surto foi verdadeira ou aparentemente debelado) e o alimento suspeito (com freqüência totalmente esgotado). A pesquisa do portador que, em certas circunstâncias, se torna indispensável, nem sempre é de fácil execução, demandando, na maioria das vêzes, equipe devidamente preparada, e tempo, mais ou menos prolongado. Estas exigências são as principais causas das lacunas observáveis em certos trabalhos da natureza dêste que estamos apresentando.

V. RESUMO

Os autores examinam bacteriològicamente, visando o encontro de enterobactérias, os pulmões de um porcino com cinco meses de idade, que apresentava na língua e na faringe, lesões similares às da necrobacilose, notando-se, no intestino grosso, úlceras arredondadas, com bordos elevados e centro necrótico. Êsse exame deu margem a que isolassem um microrganismo, identificável, pelas suas características morfológicas, tintoriais, culturais, bioquímicas e sorológicas, à *Salmonella derby*. As provas sorológicas foram levadas a efeito com sôros procedentes do Communicable Disease Center (Atlanta, Ga. — U.S.A. — Prof. Edwards) e ditos elaborados no Instituto de Biologia Animal e Escola Nacional de Veterinária (Ministério da Agricultura — Brasil).

Os autores não obtiveram dados clínicos e anamnésicos esclarecedores do episódio patológico, mas, associando os seus achados às informações da Seção de Anatomia Patológica, tendem a acreditar na possibilidade de um caso de salmonelose, agravado, posteriormente, pela ação do *Sphaerophorus necrophorus* (*Actinomyces necrophorus*), anàlogamente ao que se passa nas infecções provocadas pela *Salmonella cholerae-suis*, agindo sòzinha ou aliada ao vírus da peste suína.

Na introdução, apresentam os autores extratos de alguns dos principais trabalhos, nacionais e estrangeiros, sôbre a *Salmonella derby*.

VI. AGRADECIMENTOS

Ao Médico-Veterinário, Dr. Eduardo Maria de Morais Melo, ex-Vice-Diretor e ex-Chefe de Seção da Divisão de Fomento da Produção Animal (Ministério da Agricultura, Brasil), caberia a maior parcela dos nossos agradecimentos, pelo fato de ter sido êle o remetente do material que deu margem ao presente tra-

balho. Como, entretanto, êsse grande mestre e amigo já não existe entre os mortais, fica o artigo dedicado à sua respeitável e inesquecível memória. A outra parcela do nosso reconhecimento volta-se para o Prof. Edwards (Atlanta, Ga. — U.S.A.) para o Prof. Jefferson Andrade dos Santos e Dr. Jürgen Dobereiner (Seção de Anatomia Patalógica, I.B.A., Ministério da Agricultura, Brasil) pelo valioso auxílio, direto ou indireto, que todos nos prestaram.

FATAL (?) SALMONELLOSIS (*SALMONELLA DERBY*) IN A PIG

Abstract

Aiming at the isolation of enteric bacteria, the authors examined the lungs of a pig (five months old) and succeeded in isolating a *Salmonella derby* strain. Information about clinical symptoms of the illness that attacked and killed the young hog were very poor, but the practioner said: "the pig was inoculated and re-inoculated with crystal-violet vaccine against hog-cholera".

At autopsy it was noticed lesions similar to those seen in Necrobacillosis on the tongue and pharinx of the pig; the large intestines showed ulceration of the mucosa (rounded ulcers, with elevated edges and a yellowish necrotic center, measuring up to 2 cm diameter).

Combining their own findings with those furnished by the veterinarians who performed the autopsy, the authors were left with the impression the disease that killed the above mentioned pig could be a primary salmonellosis, complicated by the troublesome invasion of *Sphaerophorus necrophorus* (*Actinomyces necrophorus*) a natural inhabitant of the intestinal tract of pigs. Everything woulb be as in the case of infection by *Salmonella cholerae-suis,* followed by a secondary invasion of *Sphaerophorus necrophorus* (infectious enteritis of swine, Murray et al., 1927).

The authors regret it was not possible for them to clear out the source of infection, though this incompletion is not an uncommon one in this field of research. The specialized litterature shows it is not always so easy to find out the source of infection in outbreaks of salmonellosis. Actually, if someone thinks of so many items that are sometimes interlaced and interconnected in the episode of certain outbreaks of salmonellosis, one cannot overlook the great difficult in tracing, at least in special cases, the source of infection (sick men or animals; food; water; rats; mice; carriers; mechanical vectors, insects, and so on...).

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge with thanks the following veterinarians and Professors: Dr. Eduardo Maria de Morais Melo ex-Chefe de Seção e ex-Vice-Diretor da Divisão de Fomento da Produção Animal — Ministério da Agricultura — Brasil); Prof. P.R. Edwards (C.D.C., Atlanta, Ga., U.S.A.); Prof. Jefferson Andrade dos Santos and Dr. Jürgen Döbereiner (Instituto de Biologia Animal, Ministério da Agricultura, Brasil). The nominated technicians gave the authors valuble help and possibilities to write this article.

NOTE. Dr. Eduardo Maria de Morais Melo is no longer with us. He died in the begining of this year. He was an excellent practitioner (Veterinarian), a capable worker, a lover of his profession and a reliable and great friend.

VII. REFERÊNCIAS

ATKINSON, N.; WOODROOFE, G. M. & MACBETH, A. M. (1949). Apud Buxton, A. (1957). Salmonellosis in Animals (A Review). Commonwealth Agricultural Bureaux. Farnham Royal. Bucks. England.

ATKINSON N, (1956). The occurrence of Salmonella types in Australia. XI. Types found among 3340 strains. Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci., 34: 369-376 (Abstr. of the Vet. Bul. (1957) 27 (8): 395).

BAILEY, W. R. (1956). Studies on the transduction phenomenon. I. Practical applications in the laboratory. II. The occurence of Salmonella transducing phages in nature. Can. Jour. Microb., 2: 549-553 & 555-558. (Abstr. 1367: The Vet. Bul., 27: 224).

BECK, M. D.; MUNOZ, J. A. & SCRIMSCHAW, N. S. (1958). "Estudio de las enfermedades diarreicas en Centro America. I. Resultados preliminares de encuestas culturales realizadas entre grupos de poblacion de la Republica de Guatemala". Bol. Of. San. Panam., 45: 7-16.

BIESTER, H. E. & cols. (1928). Studies on infectious enteritis of swine. II. The pathogenesis of infectious enteritis. J. A. V. M. A., 72: (N. S. Vol. 25): 1003-1022.

BLAXLAND, J. D. (1953). Apud Buxton, A. (1957). Salmonellosis in Animals (A Review). Comm. Agric. Bureaux. Farnham Royal. Bucks. England.

BRUNER, D. W. & MORAN, A. B. (1949). Apud Buxton, A. (1957). Salmonellosis in Animals. A Review. Commonwealth Agricultural Bureaux. Farnham Royal. Bucks. England.

BRUNER, D. W. (1956). Salmonella presented for identification during the five-year period of 1950-1954. The Cornell Vet., 46: 11-20.

BUXTON, A. & FIELD, H. I. (1949). Salmonella Infection in Farm Livestock. Rep. XIVth Int. Vet. Congr. His. Maj. Sta. Off., 270-280. London.

BUXTON, A. (1957). Salmonellosis in Animals (A Review). Comm. Agr. Bureaux. Farnham Royal. Bucks. England.

CHAMBON, L.; BRES, P. & DELAHOUSSE, J. (1955). Salmonella derby a Saigon. Bull. Soc. Path. Expt., Tomo 48: 10-12.

EDWARDS, P. R. (1939). Proc. of the Seventh World's Poultry Congr. and Exp. Cleveland. Ohio. U. S. A.

EDWARDS, P. R.; BRUNER, D. W. & MORAN, A. B. (1948). The genus Salmonella: its occurrence and distribution in the United States. Kent. Agr. Exp. Sta. Lexington. Kentucky. Bul. 525.

FIELD, H. I. (1949). The examination of bile samples as a means of Assessing the incidence of Salmonella infection in cattle. The Vet. Rec., 61: 275-278.

FULTON, Mc D.; BLADEL, B. & LESKO, M. (1956). Salmonella in dogs and cats of a medical school animal colony. The Cornell Vet., 46: 245-248.

GALTON, M. M. & QUAN, A. L. (1943). Varieties of Salmonella isolated in Florida during 1942. Am. Jour. Hyg., 38: 173-177.

GALTON, M. M.; Mc ELRATH, H. B.; STUCKER, C. L. & HARDY, A. V. (1950). Salmonellosis in Dogs in Florida. Repr. from: "Proceedings Book". A. V. M. A. 87th Annual Meeting. Miami Beach. pp. 117-122.

GALTON, M. M.; SMITH, M. V.; Mc ELRATH, H. B. & HARDY, A. V. (1954). Salmonella in Swine, Cattle and the Environment of abbattoirs. Jour. Inf. Dis., 95: 236-245.

GALTON, M. M.; LOWERY, W. D. & HARDY, A. V. (1954). Salmonella in fresh and Smoked Pork Sausage. Jour. Inf. Dis., 95: 233-235.

GORDON, Jr. S. & GAUGER, H. C. (1941). Paratyphoid in a Fawn. J. A. V. M. A., 99: 54.

HEATHER, C. D. & BARBARA N. (1960). Aislamiento de Salmonelas de los alimentos caninos. Bol. de la Ofic. Sanit. Panam. Tomo (vol.) 48 (Enero-Junio): 59-60. Washington, D.C. U.S.A.

HINSHAW, W. R.; Mc NEIL, E. & TAYLOR, T. J. (1944). Avian Salmonellosis. Types of *Salmonella* isolated and their relation to Public Health. Am. Jour. Hyg., 40: 264-278.

HORMAECHE, E., PELUFFO, C. A. & ALEPPO, L. (1936). Nueva contribucion al studio etiologico de las diarreas infantiles de verano. Las "Salmonelas en las enterocolitis de la infancia". Arch. Ur. Med. Cir. y Esp., tomo IX (2): 113-162.

HORMAECHE, E. & cols. (1950). Ivestigaciones sobre la Existencia de Bacterias de los Generos Salmonella y Shigella en las Moscas. Arq. Quinto Congr. Int. Micr. Departamento de Imprensa Nacional. Rio de Janeiro. Brasil. 1958.

HUAN-YING LI & DAVIS, D. E. (1952). The prevalence of carriers of Leptospira and Salmonella in Norway rats of Baltimore. Am. Jour. Hyg., 56: 90-100.

KAUFFMANN, F. (1931). Der heutige Stand der Paratyphusforschung. Zbl. ges. Hyg., 25: 273-311.

KAUFFMANN, F. (1934). Die Salmonella-Gruppe mit besonderer Beruecksichtigung der Nahrungsmittelvergifter. Ergebn. Hyg. Bakt., 15: 219-275.

KAUFFMANN, F. (1937). Uber einem neuen Salmonella-Typus (Salmonella bredeney) sowie die Bewertung der Antigentabelle. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, 119: 356-368.

KRANEVELD, F. C.; ERBER, M. & MANSJOER N. (1954). "[Some Salmonellas isolated from pigs in Java]". Hemera Zoa, 61: 314-320. (Abstr. The Vet. Bul., 25: 668).

LEITE RIBEIRO, V. R. (1945). Sôbre um caso fatal de salmonelose por *Salmonella derby*, com autópsia. O Hospital, 27: 905-916. Rio de Janeiro. Brasil.

LEVINE, N. D.; PETERSON, E. H. & GRAHAM, R. (1945). Studies on Swine Enteritis. II. Salmonella and Other Enteric Organisms Isolated from Diseased and Normal Swine. Am. Jour. Vet. Res., 6: 242-246. (Separata).

MANN, P. H.; SAPHRA, I. & HUDSON, P. B. (1953). Salmonella types found in the mesenteric lymph glands of dogs and cats in New-York city and vicinity. The Cornell Vet., 43: 462-463.

MAROJA, RAINERO C.; DE FREITAS, E. NAZARENO & DA CRUZ, F. MONTEIRO (1959). Tipos de Salmonella isolados na Zona da Mata de Pernambuco, 1956-1958. Revista do Serviço Especial de Saúde Pública. Tomo 10 (n.º 2): 759-763. Ministério da Saúde. Rio de Janeiro. Brasil.

MATA, L. (1957). Estudio sobre la incidencia de shigelas en Guatemala. Rev. Biol. Trop., 5: 211-230.

MC CARTY, R. T. (1953). Neomycin Sulfate Treatment of Salmonella derby Infection in Geese. J. A. V. M. A., 122: 386-387.

MERIDIAN, R. B. (1951). Salmonella in Dogs and Cats of the Los Angeles, Honolulu and Bermuda Areas. J. A. V. M. A., 118: 164-166.

MONTEVERDE, J. J.; SIMEONE, D. H. & MENHACA, E. S. (1946). Investigacion de salmonelas em materias fecales de bovinos sanos. Anais Terceiro Congr. Bras. Vet.: 574-591. Livraria do Globo. Porto Alegre. Rio Grande do Sul. Brasil.

MURRAY, CHAS & cols. (1928). Studies on infectious enteritis of swine. J. A. V. M. A., 72: (N. S. Vol. 25): 34-89.

NEEL, R.; KAWEH, N.; JORGENSEN, K. & TASLIMI, H. (1953). Introdution à l'etude des salmonella et des salmonelloses en Iran. [Salmonella spp. and salmonellosis in Persia]. Bul. Acad. Vet. Fr. 26: 547-554. (Abstr. of the Vet. Bul., 25: 396).

NEIVA, C. (1946). Incidência de salmonelas em suínos. Anais do Terceiro Congr. Bras. Vet., pp. 430-435. Livraria do Globo. Pôrto Alegre. Rio Grande do Sul. Brasil.

NORDBERG, B. K. & EKSTAM, M. (1950). Salmonellosis in chickens. Nord. Vet. Med. 2: 23-30. (Resumo em: J. A. V. M. A., 118: 406).

NORONHA PERES, J. (1948). Investigações sôbre o gênero Salmonella em Belo Horizonte. Tese. Gráfica Queiroz Breiner Ltda. Belo Horizonte. Minas Gerais. Brasil.

PECKHAM, C. F. (1923). An outbreak of pork pie poisining at Derby. Jour. Hyg. (London): 22: 69-76.

PELUFFO, C. A.; BIER, O.; AMARAL, J. P. & BIOCA, E. (1946). Estudos sôbre as salmoneloses em São Paulo. I. Incidência dos diferentes tipos em diarréias infantis. Mem. Inst. Butantan, 19: 211-215. São Paulo. Brasil.

PEREZ, M.; VACCARO, H. & cols. (1950). Investigacion de Salmonellas en Cerdos. Arq. Quinto Congr. Int. Micr. Dep. Imprensa Nacional. Rio de Janeiro. Brasil. 1958.

PEREZ, M.; VACCARO, H. & GUTIERREZ, E. (1950). Investigacion de Salmonellas en Ganglios Mesentericos de Equinos. Arq. Quinto Congr. Int. Micr. Dep. Imprensa Nacional. Rio de Janeiro. Brasil. 1958.

PESTANA, B. R. & RUGAI, E. (1943). O porco normal como portador de salmonelas. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 3: 232-235. São Paulo. Brasil.

PLANET DO AMARAL, J. & cols. (1950). Estudos sôbre as Salmoneloses em São Paulo. IV. Verificação sôbre a patogenicidade dos diferentes tipos isolados em recém-nascidos e na primeira infância. Arq. Quinto Congr. Int. Micr. Dep. Imprensa Nacional. Rio de Janeiro. Brasil. 1958.

PUMAROLA, A. (1953). Germenes del grupo Salmonella en los ganglios mesentéricos de cerdos aparentemente sanos. Anais do VI Congr. Int. di Microbiologia, II (Sezione XII, sotto--sezione B, Enterobacteriaceae N 618): 327. Roma. Itália.

RUBIN, H. L. & cols. (1942). Apud Quiroga, S. S. & MONTEVERDE, J. J. (1945). Investigacion de bacterias del genero "Salmonella" em cerdos enfermos de peste e viruela. Rev. Med. Vet., 27: 226-241. Buenos Aires. Argentina.

SAPHRA, I. (1950). Fatalities in Salmonella infections. Am. Jour. Med. Sci., 120: 74-77. (Separata).

SAPHRA, I. & MARQUEZ, A. C. V. (1952). Los aspectos clinicos de las salmonelosis. Conferencia (Mesa Redonda) celebrada el 15 de Enero de 1952 en el Aula de la Cátedra de Bacteriologia, Escuela de Medicina de la Habana (Cuba). Separata.

SAVAGE, W. G. & WHITE, P. B. (1925). An investigation of the Salmonella Group, with Special Reference to Food Poisoning. Med. Res. Counc. Spec. Rep. Ser. N.º 91: 18-19.

SELIGMANN, E. & HERTZ, J. J. (1944). Salmonella infections. Report of 37 cases observed at Beth Israel Hospital, New-York, in the past few years. Repr. from Ann. Int. Med., 20: 743-751.

SELIGMANN, E.; SAPHRA, I. & WASSERMANN, M. (1946). Salmonella infections in the U.S.A. A second series of 2000 human infections recorded by the N. Y. Salmonella Center. Repr. from: Jour. Imm., 54: 69-87.

SOLOWEY, M.; Mc FARLANE, V. H.; SPAULDING, E. H. & CHEMERDA, C. (1947). Microbiology of Spray-dried Whole Egg. Am. Jour. Pub. Health, 37: 971-982.

SUTMOLLER, P. & KAMPELMACHER, E. H. (1957). The occurrence of Salmonella among animals in Aruba (Netherlands Antilles). Repr. from Antonie van Leeuwenhoek, 23: 207.

TAUNAY, A. E.; CORRÊA, G. A. & FLEURY, C. T. (1945). Freqüência de alguns agentes microbianos nas chamadas "diarréias infantis" em São Paulo. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 5: 331-336. São Paulo. Brasil.

VACCARO, H.; MERCEDES PEREZ, M. & FINCHEIRA, O. (1945). Apud Buxton, A. (1957). Salmonellosis in Animals (A Review). Comm. Agr. Bureaux. Farnham Royal. Bucks. England.

VACCARO, H.; PEREZ, M. & FERNANDEZ, B. (1950). Investigacion de Salmonellas en Carnes y Visceras Frescas de Porcinos y Bovinos Normales. Arq. Quinto Congr. Int. Micr. Dep. Imprensa Nacional. Rio de Janeiro. Brasil. 1958.

VACCARO, H.; PEREZ, M. & cols. (1950). Ivestigacion de Salmonellas en Cadaveres Humanos. Arq. Quinto Congr. Int. Micr. Dep. Imprensa Nacional. Rio de Janeiro. Brasil. 1958.

VARELA, G. & ZOZAYA, J. (1941). Salmonellas en ganglios de porcinos. Rev. Inst. Sal. y Enf. Trop., 2: 311-318.

VARELA, G. & GIRON, A. T. (1943). Salmonelas aisladas de un grupo de cerdos enfermos. Rev. Inst. Sal. y Enf. Trop., 4: 139-147.

VARELA, G.; PEREZ-REBELO, R. & OLARTE, J. (1951). Salmonella and Shigella organisms in the intestinal tracts of dogs in Mexico City. Repr. from J. A. V. M. A., 119: 385-386.

VARELA, G. & OLARTE, J. (1952). Classification and distribution of 1075 cultures of Salmonella isolated in the city of Mexico. Jour. Lab. Clin. Med., 40: 73-77.

WATT, J. & DE CAPITO, T. (1950). The frequency and distribution of Salmonella types isolated from man and animals in Hidalgo Country, Texas. Am. Jour. Hyg., 51: 343-352.

WHITE, P. B. (1926). Further studies of the Salmonella Group. Med. Res. Counc. Spec. Rep. Ser. No. 103: 99-100.

YOSHIO AOKI (1950). Studies on the occurrence and Distribution of Salmonella Types in the Far East Continental. Arq. Quinto Congr. Int. Micr. Dep. Imprensa Nacional. Rio de Janeiro. Brasil. 1958.

Arq. Inst. Biol. Animal. 4: 49-63
1961 — Min. Agricultura, Brasil

BRUCELOSE DOS EQUÍDEOS DOMÉSTICOS — ISOLAMENTO DA BRUCELLA ABORTUS DE BURSITES DA CERNELHA, NO BRASIL *

JEROME LANGENEGGER ** ACÁCIO MIGUEL SZECHY ***

I. INTRODUÇÃO

A brucelose dos equídeos domésticos, compreendendo a dos equinos, muares e asininos, não assume importância econômica e sanitária igual a da infecção brucélica do bovino, do suíno, do caprino e do ovino, já por ser registrada em menores incidências nos solípedes, mas principalmente, por não constituir doença da reprodução como nas espécies citadas. Ao lado disso, sendo limitado ou mesmo rejeitado o consumo da carne e derivados de equídeos, em muitos países, decresce paralelamente o valor econômico e a importância sanitária no campo da saúde pública.

Contudo, o estudo da brucelose dos equídeos veio merecer atenção na patologia animal, verificando-se desde logo que a doença manifesta-se por um quadro clínico e anátomo-patológico peculiar do qual sobressaem os processos inflamatórios localizados sob forma de bursites e fístulas da cernelha e da nuca; bursites e tendovaginites nos membros; atrites e abcessos esporádicos no esterno.

Os prejuízos econômicos se fazem sentir pela gravidade das lesões, com evolução geralmente lenta, levando muitos animais afetados à inutilização definitiva, quando não, a uma incapacidade temporária para o trabalho ou então requer longa hospitalização após o tratamento cirúrgico.

Sob o ponto de vista epizootiológico é interessante notar que, via de regra, os bovinos constituem a fonte de infecção para os equídeos, entretannto, os próprios solípedes podem contaminar rebanhos bovinos indenes [21, 49, 84] ou mesmo servir de fonte de contágio para o homem [10].

Na literatura brasileira, a brucelose dos equídeos havia sido assinalada sòmente por testes sorológicos e em pequeno número de animais [39, 58, 67, 68], no entanto, Alice [1] já correlacionou a doença com os sintomas clínicos do "mal do garrote" reforçando assim o diagnóstico sorológico. Recentemente, em 1958, Caldas e Ribeiro [9] diagnosticaram dois casos de brucelose em equinos, com formas localizadas na cernelha, isolando e identificando a *Brucella abortus* de um dêles.

A partir de 1954, tivemos também a oportunidade de estudar 6 casos de brucelose em equídeos com formas localizadas da doença e comprovar a infecção pelo isolamento da *Brucella abortus* de 4 animais portadores de bursites ainda fechadas, na região da cernelha. Paralelamente colhemos dados, por meio de

---

* Entregue para publicação em 25 de maio de 1961.

** Veterinário da Secção de Zoonoses Bacterianas do Instituto de Biologia Animal e Assistente de Ensino da Escola Nacional de Veterinária da Universidade Rural, Rio de Janeiro.

*** Veterinário da Secretaria de Agricultura do Estado da Guanabara e Assistente de Ensino da Escola Nacional de Veterinária da Universidade Rural, Rio de Janeiro.

exames sorológicos, sôbre a incidência da infecção brucélica, em nosso meio, em equídeos aparentemente normais, oriundos de pastagens em que tenham tido contato com bovinos contaminados pela brucelose.

A escassa bibliografia nacional especializada sôbre o assunto que, em grande parte, deve ter contribuído para a pouca atenção dispensada à brucelose dos solípedes no Brasil e a relativa importância sanitária que esta representa como veículo de disseminação da doença e fonte de contágio para outras espécies, inclusive para o homem, nos encorajaram a publicar o presente trabalho que se compõe de uma revisão bibliográfica da brucelose dos equídeos e as nossas observações sôbre a mesma, ainda que em limitado número.

O estudo da literatura mostra terem sido Fontaine e Lütje [23], em 1919, os primeiros a levantarem a suspeita, relacionando a infecção brucélica do cavalo com lesões na região da cernelha e da nuca. Fizeram-no ao estudarem influências de outras doenças sôbre o diagnóstico sorológico do môrmo. Neste trabalho testavam os sôros com vários antígenos bacterianos e dentre êstes também com o da brucelose, quando surprenderam 17 cavalos reagentes, dos quais 12 eram portadores de lesões da cernelha ou da nuca. Na ocasião já lhes foi possível evidenciar no exsudato inflamatório destas lesões, colônias bacterianas que pela coloração e localização intracelular, assemelhavam-se às do agente etiológico do abôrto contagioso da vaca, e cultivar a *Brucella* em três casos.

Independentemente desta observação original, foi tão sòmente em 1928 que Rinjard e Higler [64] confirmaram aqueles estudos, desenvolvendo-se a partir de então um grande número de trabalhos em tôrno do assunto.

A brucelose dos equídeos é causada pela *Brucella abortus,* muito raramente pela *Brucella suis* [20, 65], não tendo sido ainda confirmada em literatura o isolamento da *Brucella melitensis* de infecções naturais. Experimentalmente tôdas as três espécies de *Brucella* infectam os equídeos [28, 70] o que deve realçar o fator da exposição nas infecções naturais.

A infecção natural é observada mais freqüentemente em animais adultos independentemente de sexo. Infecções experimentais mostram que potros são igualmente suscetíveis [37, 50, 53]. A maior incidência da brucelose é registrada na espécie equina, dentre êstes também em pôneis [17, 44], pouco freqüente em muares e bastante raros são os casos da doença descritos em asininos [13].

A fonte de infecção da brucelose para os equídeos é quase exclusivamente o contato com rebanhos bovinos contaminados, principalmente através dos líquidos fetais e fetos abortados, placentas ou corrimentos uterinos contagiantes, quer direta ou indiretamente, nas pastagens, em bebedouros, nos estábulos, com utensílios diversos, [2, 6, 31, 72, 86] ou ainda pelo manejo como o supõem Ammann e Hess [2] pela mão contaminada do ordenhador ao tocar as conjuntivas oculares do animal. Observou-se desde logo também, que a incidência de infecções brucélicas do cavalo era maior nas fazendas do que em cavalhariças de cidade onde o fator de exposição é muito menor [5, 48, 77]. O mesmo deve ocorrer em haras de cavalos de corrida, que dado o temperamento, não convivem com bovinos, no entanto, persiste a possibilidade da infecção quando os potros são criados com a suplementação de leite de vaca com brucelose.

Infecções entre equídeos devem ocorrer principalmente pelo contato com o conteúdo das bursites e abcessos fistulizados. Autores italianos acreditam na possibilidade de ocorrerem infecções em praias onde equídeos portadores de fístulas brucélicas e outros normais se espojam na areia após o trabalho. *A Brucella* sobrevive por tempo variável, dependendo da profundidade em que se encontra na areia [61].

Por outro lado, equídeos infectados podem constituir fonte de contágio para rebanhos bovinos indenes por meio do contato com o exsudato contagiante das

bursistes abertas [21, 49], através da introdução de animais com infecções latentes [84] e que posteriormente se manifestam por processos localizados sujeitos a fistulizar [2]; muito raramente pela eliminação da *Brucella* nas fezes [45], na urina [28], no leite [8] ou ainda excepcionalmente pelas vias genitais [54, 69].

Finalmente podem os equídeos domésticos portadores de lesões brucélicas transmitir a doença ao homem como o assinalaram Carpenter e Boak [10] em duas crianças que tiveram contato com cavalos portadores de fístula da cernelha.

O quadro epizootiológico varia um pouco de país para país segundo os hábitos e as práticas zootécnicas, fazendo alterar o fator exposicional, independentemente do estado sanitário do rebanho e assim podem oscilar as incidências de infecções brucélicas nos testes sorológicos que já acusaram até 30% de reagentes [14], mas que em geral são bastante baixos [32, 37, 81, 87]. Por outro lado, a doença apresenta características epizoootiológicas comuns como se pode constatar em todos os países desde os primeiros trabalhos na Alemanha [35], na França [64], na Holanda [40], na Suécia [42], na Hungria [32], na Rússia [83], na Inglaterra [15], na Escócia [80], nos Estados Unidos [19], na Austrália [4], na Noruega [22], na Itália [14], na Eritreia [3], na Suiça [71], na Áustria [48], na Iugoslávia [87] e outros países onde a doença já foi assinalada.

Admite-se que a via de infecção "per os" constitue a porta de entrada do agente patogênico nas infecções naturais, no entanto, não deve ser desprezada a via conjuntival, como sugerem Ammann e Hess [2], dada a facilidade com que se realiza a infecção experimental. A suposta via cutânea, em pontos de atrito com arreios, ainda não poude ser comprovada.

Quanto a patogenia da infecção, sabe-se que o microrganismo caindo na corrente sangüínea ou linfática, ocasiona uma septicemia lenta que segundo a disposição individual do organismo infectado e a virulência da estirpe de *Brucella,* pode evoluir para três formas clínicas:

a) Forma assintomática ou latente, na qual após ligeiras elevações térmicas, a infecção seria vencida ou os agentes patogênicos permaneceriam fagocitados sob forma de infecção latente, por tempo variável, sem manifestações clínicas, que entretanto, podem evoluir, em dadas circunstâncias, para formas localizadas [2, 45, 66]. Podem também persistir aglutininas no sangue por períodos variados.

b) Formas com sintomas gerais, em que a septicemia desencadearia fortes reações térmicas com duração variável [66, 83, 86], passando freqüentemente, após a fase aguda, para febre do tipo ondulante [43, 57, 66]. Ao lado desses, vários sintomas independentes ou combinados podem acompanhar o quadro clínico tais como fraqueza no trabalho, depressão geral, bradicardia, debilidade cardíaca, taquicardia, rigidês muscular, formas reumatoides, claudicações discretas ou violentas sem causa aparente, mesmo sintomas nervosos [2, 18, 30, 41, 43, 50, 57, 83, 86]. Semanas após podem sobrevir os sinais das formas localizadas [50, 57, 66].

c) Formas localizadas, que podem ter origem após infecções latentes ou sobrevirem das formas sintomáticas gerais, caracterizando-se por processos inflamatórios sero-fibrinosos, por vêzes purulentos [33, 37, 52], formando coleções de exsudato, principalmente nas bolsas mucosas do ligamento cervical, nas bolsas e bainhas tendinosas dos membros, nas sinóvias articulares e algumas formas esporádicas de abcessos. A bursite da *Bursa cucullaris* é a mais freqüente, constituindo o chamado "mal da cernelha" "mal do garrote" ou "mal da cruz", seguindo-se as da região da nuca e que genèricamente são designadas por "mal da nuca". O estudo anátomo-topográfico [56] mostra que sob o *Funiculus nuchae* (parte funicular) do *Ligamentum nuchae* (ligamento cervical) e sôbre a

3.ª apófise espinhosa, localiza-se a *Bursa cucullaris* (supraespinhosa); sôbre o atlas a *Bursa nuchalis cranialis* (atlantoideana) e sôbre o axis a *Bursa nuchalis caudalis*. Estas duas últimas bolsas são inconstantes e geralmente se desenvolvem com a maior função do ligamento. As bursites manifestam-se por abaulamentos, em um ou ambos os lados, ou ainda, em um e só depois no outro lado da crineira, geralmente sob forma de calotas esféricas no início, depois irregulares e flutuantes a medida que se desenvolvem. As tumorações são quentes e dolorosas. A punção permite obter exsudato, geralmente em grande quantidade, de coloração amarelo citrino, mais ou menos mucoso, e com maior ou menor floculação de fibrina; em outros casos o líquido pode ser mais turvo ou mesmo purulento [33, 37, 52] devendo ser em parte devido a contaminações. Roderick e cols. [65] informam terem isolado regularmente o *Actinomyces bovis* associado com a *Brucella abortus,* observação ainda não citada por outros autores.

As bursites, via de regra, acabam por fistulizar, sobrevindo contaminações que, segundo a natureza, modificam o aspecto do fluxo da fístula. As lesões podem extender-se aos tecidos subjacentes e estruturas vizinhas por processos ulcerosos, necróticos ou supurativos.

Ammann e Hess [2] concluíram pela existência ocasional de outra bolsa, tida como acessória, localizada sôbre a 2.ª apófise espinhosa, dadas as suas observações de bursites situadas no pescoço, na frente do terço superior da omoplata. Outras localizações menos freqüentes já foram assinaladas, tais como a bursite intertubercularis [2], tendo vaginites [2, 6], coxites [2, 41], tarsites [7], gonites [12], como também abcessos e fístulas do esterno [19, 22, 41, 51], e da extremidade distal de costelas junto ao esterno [12, 45].

O mecânismo e fatôres circunstanciais da infecção brucélica nos equídeos em mostrar tendência para a formação de processos localizados, permanecem ainda obscuros, pois não se consegue reproduzí-los normalmente por infecções experimentais [28, 46, 53, 60, 70]. A administração de leite contaminado parece ter dado êxito na reprodução de formas localizadas em potros [37, 50, 53]. A infecção natural, como também a artificial, de animais em gestação, não provoca o abôrto nem ocorrem localizações uterinas nos solípedes; neste particular há duas exceções registradas em literatura [54, 69]. Fetos de animais brucélicos, logo ao nascer, podem apresentar aglutininas no sangue [55]. No que concerne a tendência à localização, a maioria dos autores admite haver uma afinidade especial do agente etiológico para o conteúdo das bolsas sinoviais e bainhas tendinosas, enquanto outros autores há que defendem a ação de fatôres predisponentes como o traumatismo e o parasitismo por nematódios do gênero *Onchocerca* faltando entretanto as devidas comprovações [13, 24, 25, 36, 43, 76].

Estes processos localizados da brucelose dos equídeos evoluem lentamente e o prognóstico sempre é reservado.

O diagnóstico clínico da brucelose dos equídeos pode ser feito baseado na anamnese, nos sintomas clínicos gerais e pelas lesões localizadas, devendo ser corroborado pelo exame sorológico e confirmado pelo exame bacteriológico.

As infecções assintomáticas são geralmente detidas por exames sorológicos, sendo para isso utilizado comumente os métodos de sôro-aglutinação rápido ou lento, considerando-se positivos os títulos na diluição 1:100 ou superiores [26, 29, 34, 74, 75]. Estes exames sorológicos, entretanto, não revelam o estado da infecção, podendo inclusive serem negativos em casos de infecções latentes. Estudos comparativos entre os métodos de sôro-aglutinação, como também entre estes e o da fixação de complemento, mostram-se bastante concordantes [46, 75, 87]. Igualmente já foram realizados ensaios com testes alérgicos [62, 63, 83].

O diagnóstico bacteriológico consiste no isolamento do agente etiológico das lesões localizadas. Processos fistulizados há mais de três dias ou muito contaminados por punções sépticas, dificultam o isolamento da *Brucella* [12, 73, 78]. O material recem colhido deve ser examinado microscòpicamente para aquilatar o grau de pureza, ocasião em que também já pode, por vezes, ser evidenciado o agente etiológico utilizadas as colorações adequadas [23, 73]. Com esta prática, Hedström e Olson [33] tiveram melhores resultados em casos de exsudato purulento do que em casos de bursites sero-fibrinosas, verificando maior concentração de *Brucella*. Semeia-se em meios apropriados, sendo incubado também em atmosfera de CO_2. Inocula-se amostra do mesmo material em cobaios.

Verificou-se desde os trabalhos de Rinjard e Higler [64] o isolamento da *Brucella* de animais portadores de bursites ou abcessos da cernelha, da nuca e também de outras localizações, o que vem indicar a especificidade da lesão brucélica em equídeos domésticos [2, 9, 12, 15, 16, 17, 20, 25, 26, 36, 41, 53, 59, 66, 72, 73, 78].

Quanto ao diagnóstico diferencial, casos de brucelose com sintomas gerais podem lembrar a anemia infecciosa [57], como também confundir-se com a influenza dos equinos [47]. As formas localizadas de brucelose podem assemelhar-se com lesões traumáticas asséptica ou supuradas, como também com a infestação por *Onchocerca sp.* [76, 82]. Nestes casos o exame bacteriológico e os testes sorológicos podem excluir ou confirmar um diagnóstico. Burky e cols. [8] levantaram a hipótese de que a fluxão periódica dos equídeos fôsse uma forma clínica da brucelose dos solípedes, o que logo foi contestado [79]; entretanto Pacheco [58]. voltou a considerar o assunto, no entanto, a sua observação também não mais se confirmou na literatura.

O tratamento da brucelose dos equídeos ainda constitue assunto problemático quer pelo lado econômico dada a lenta evolução, em média 3 a 4 meses [2, 27], do que resultam prejuízos por inutilização temporária no trabalho, além da dispendiosa hospitalização e inclusive com o risco da pêrda do animal, quer pelo lado terapêutico que ainda não dispõem de recursos específicos, quer pelo lado sanitário onde curas clínicas podem mascarar infecções latentes.

Apesar disso, a intervenção cirúrgica vem sendo empregada no tratamento das formas localizadas, com relativo êxito nos processos recentes, utilizando-se várias técnicas operatórias [2, 11, 85]. Generalizou-se bastante o uso de bacterinas como tratamento coadjuvante [2, 27, 80] como também o uso de quimioterápicos e antibióticos com resultados variados [2, 65].

II. MATERIAL E MÉTODOS

Contamos para o presente estudo com 6 equídeos, ou seja 5 cavalos e 1 muar, portadores de lesões localizadas suspeitas de brucelose. Em 5 animais a lesão se encontrava na região da cernelha, genèricamente conhecida por "mal da cernelha", "mal do garrote" ou "mal da cruz"; em 1 na região da nuca, entre leigos designado por "mal da nuca". Os animais são oriundos de localidades diferentes, dos arredores da Universidade Rural, do Estado do Rio de Janeiro e do Estado da Guanabara. Trazidos por seus proprietários para consulta clínica, procuramos obter dados sôbre os antecedentes, fazer a descrição clínica e os exames laboratoriais para a confirmação da diagnose de cada caso.

Coletamos ainda, nesta mesma região em vários estabelecimentos pastoris, 230 amostras de sangue de equídeos aparentemente normais, oriundos ou mantidos nas mesmas pastagens com bovinos nos quais já fora diagnósticada a brucelose, para a realização de provas sorológicas e verificar a incidência de infecções brucélicas assintomáticas.

O diagnóstico sorológico foi realizado pela reação da sôro-aglutinação, método rápido da placa segundo Huddleson, utilizando-nos de antígeno elaborado no Instituto de Biologia Animal pela técnica oficial recomendada pelo Ministério da Agricultura * para o diagnóstico sorológico da brucelose bovina. Obtínhamos os sôros dos equídeos do sangue puncionado na jugular e os exames eram rotineiramente realizados 24 horas após a coleta. Sôros com reações inferiores ao título de 1:100 foram retestados pela prova lenta segundo a técnica de Widal, utilizando-nos, como antígeno, de suspensão fenicada da *Brucella abortus* 1119-$_3$ na concentração correspondente ao n.º 3 da Escala de McFarland.

O exame bacterioscópico do material coletado assèpticamente do conteúdo das lesões da cernelha e da nuca, foi realizado em esfregaços, tendo-se o cuidado de adelgaçar e distender pequenos flocos do exsudato sôbre a lâmina, que depois de sêcas eram ligeiramente fixados na chama e rotineiramente corados pelo método de Gram, de Köster e de Stableforth.

O exame bacteriológico foi realizado rotineiramente por culturas diretas do conteúdo das bolsas mucosas inflamadas, coletado por punção asséptica, em agar batata ou agar triptose e também nos mesmos meios adicionados com impedientes para possível flora de contaminação; geralmente acrescentamos violeta de genciana na proporção de 1:100.000. As placas eram semeadas por esgotamento de alça com duas ou três gotas do material suspeito e incubadas a 37ºC, fora e em atmosfera de CO_2, durante 48 a 72 horas. As culturas negativas permaneciam na estufa por um período de 6 a 7 dias. Ao lado destas culturas, semeaduras do mesmo material eram feitas em meios simples e enriquecidos, em aerobiose e anaerobiose, para deter ou excluir outros agentes patogênicos.

As amostras de *Brucella* isoladas eram controladas quanto aos seus caracteres morfológicos e culturais, às suas propriedades bioquímicas e ao seu comportamento sorológico com sôros e antígenos padronizados.

Com o mesmo material suspeito eram inoculados cobaios normais, por via subcutânea e intraperitoneal, que após 6 semanas eram testados sorològicamente e após 8 semanas sacrificados para o exame anátomo-patológico, com referência especial para as lesões do baço, e o exame bacteriológico para o isolamento da *Brucella* do tecido esplênico. Da mesma forma, as culturas suspeitas de *Brucella* obtidas por semeadura direta do material suspeito, eram passadas por cobaios, via intraperitoneal, tentando-se a reprodução do teste sorológico, das lesões esplênicas e o reisolamento do agente etiológico.

III. NOSSAS OBSERVAÇÕES — RESULTADOS

A. Casos de brucelose em equídeos com processos localizados

Apresentamos a descrição individual dos casos estudados, frizando a anamnese que em alguns casos é precária, os sintomas clínicos, as lesões anatômicas, o resultado do exame sorológico e do exame bacteriológico:

C A S O n.º 1

Tratava-se de equino, macho castrado, 7 a 8 anos de idade, alazão com frente aberta e calçado, em bom estado de nutrição, procedente de fazenda dos arredores da Universidade Rural, Município de Itaguai, Estado do Rio de Janeiro.

O animal vinha sendo utilizado como cavalo de sela da fazenda, sendo mantido nos mesmos pastos das vacas leiteiras cujo rebanho acusou um índice

* Portaria n.º 438/58, técnica preconizada pelo "United States Bureau of Animal Industry".

de 20% de reagentes à brucelose em exame anteriormente realizado. A anamnese revelou ainda que o cavalo adoeceu, de um dia para outro, mostrando progressiva rigidês dos membros posteriores com acentuado edema destes, suores profusos, apatia e indiferença ao meio. Por vários dias acusou temperaturas em tôrno de 40°C decrescendo depois lentamente como também iam desaparecendo os citados sintomas. Aproximadamente 14 dias após, notou-se o aparecimento de um abaulamento, inicialmente no lado esquerdo da crineira na região da cernelha, dias depois também no lado oposto, tomando a forma de calota esférica, muito sensível e com temperatura local elevada (Fig. 1). A medida que se desenvolviam estas tumorações, tornavam-se flutuantes e a punção revelou a presença de exsudato sero-mucoso com grande quantidade de flocos de fibrina.

O exame sorológico acusou reação positiva para brucelose no teste da sôro-aglutinação até o título de 1:400.

O exame bacterioscópico revelou apenas massas de fibrina e raros piócitos.

O exame bacteriológico do exsudato realizado no Instituto de Biologia Animal n.º 66/54 *, permitiu o isolamento de amostra de *Brucella abortus,* em cultura pura, porém com apenas algumas colônias por placa.

Diagnóstico: Brucelose com bursite brucélica e isolamento da *Brucella abortus*.

Com a evolução, as coleções de exsudato nas bolsas mucosas aumentavam a ponto de, em punções posteriores, terem sido coletados até um litro dêste de cada tumoração que aparentemente não se comunicavam. Sobreveio a fistulização, realizando-se então a intervenção cirúrgica por meio de incisões verticais, curetagem e tratamento local com antissépticos. Por vários meses permaneceu pequena fístula.

C A S O n.º 2

Tratava-se de muar, fêmea, aproximadamente 15 anos, pelagem baia clara, em ótimo estado de nutrição, procedente de fazenda em Santa Cruz, Estado da Guanabara.

O muar vinha sendo utilizado no trabalho de vaqueiro que observou há cêrca de 3 meses o aperecimento, bilateral, simétrico, na região da cernelha, de tumorações que cresciam lentamente. Por ocasião do exame clínico já ocupavam área de aproximadamente 15 x 18 cm e faziam saliência de 8 cm, bastante bem delimitadas, muito sensíveis e flutuantes ao toque. A punção revelou conteúdo líquido sero-mucoso com flocos de fibrina.

O exame sorológico do sangue para brucelose foi positivo com título de 1:200 na sôro-aglutinação.

O exame bacterioscópico foi negativo para microrganismos, revelando apenas fibrina e detritos celulares.

O exame bacteriológico n.º 1/59 permitiu o isolamento de estirpe de *Brucella abortus* do exsudato coletado, em cultura pura, mas também com algumas colônias só por placa.

Diagnóstico: Brucelose com bursite e isolamento da *Brucella obortus*.

O animal foi submetido a intervenção cirúrgica e tratamento local com antissépticos, recidivando após um mês com nova coleção de exsudato, foi feita uma segunda operação, obtendo-se então a cura clínica em cêrca de um mês depois.

---

* O trabalho bacteriológico foi realizado pela Dra. Norma Moraes da Silva e pelo Dr. Leopoldo Alves Marinho, a quem agradecemos.

C A S O n.º 3

Tratava-se de equino, macho castrado, 7 anos de idade, pelagem tordilho claro, em estado regular de nutrição, procedente de Santa Cruz, Estado da Guanabara.

O animal pertencia a um sitiante que não possuia bovinos, mas o cavalo havia sido adquirido, há pouco, de um vaqueiro e já na ocasião da compra apresentava o "mal da cernelha". Desconhecemos pormenores sôbre o início da doença.

No exame clínico por nós realizado, observamos uma tumoração fistulizada no lado esquerdo da cernelha da qual escorria pús amarelo mucoso. No lado direito, em ponto simétrico, havia uma cicatriz irregular com depilação e bordos anfractuosos, presumìvelmente de fístula antiga. Pouco para frente desta, nova tumoração ainda fechada fazia saliência, era flutuante e de forma de calota esférica, medindo aproximadamente 15 cm de diâmetro. A punção revelou conteúdo sero-mucoso, amarelo, com bastante fibrina.

O exame sorológico para brucelose revelou reação positiva com título de 1:100 e parcial de 1:200 na sôro-aglutinação.

O exame microscópico dos esfregaços foi negativo.

O exame bacteriológico n.º 19/59 não revelou crescimento e não tendo sido feito novas culturas nem inoculações em cobaios, o exame ficou incompleto.

Diagnóstico: Brucelose crônica com bursites.

A intervenção cirúrgica feita como nos casos precedentes, permitiu cura clínica após o tratamento de aproximadamente 3 meses.

C A S O n.º 4

Tratava-se de equino, macho castrado, 8 anos de idade, pelagem baia, procedente do Município de Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro.

O animal vinha sendo utilizado no trabalho de fazenda de criação de bovinos. Fora adquirido recentemente por baixo preço, ocasião em que já apresentava pequena tumoração no lado direito da cernelha. Em cêrca de 3 a 4 semanas evoluiu para volumosa deformação da cernelha, constituída aparentemente por 4 lojas com coleção de conteúdo sero-mucoso, amarelado, e com numerosos flocos de fibrina. Externamente estas lojas eram demarcadas por nítidos relêvos (Fig. 2). No lado esquerdo desenvolveu-se também lesão semelhante com abaulamento menor.

O exame sorológico para brucelose acusou título de 1:400 na reação da sôro-aglutinação.

O exame bacterioscópico revelou apenas massas de fibrina e detritos celulares nos esfregaços.

O exame bacteriológico n.º 28/59, permitiu o isolamento de cultura de *Brucella abortus* do exsudato da bolsa mucosa, crescendo também só algumas colônias por placa.

Diagnóstico: Brucelose com bursite brucélica e isolamento *da Brucella abortus*.

O animal foi sacrificado pelo proprietário após a confirmação do diagnóstico.

C A S O n.º 5

Tratava-se de equino velho portador de lesão localizada na região da nuca, sob forma de tumoração, flutuante e sensível, que vinha sendo notada há mais de três anos. O animal já fôra submetido a vários tratamentos, tendo sido puncionado algumas vezes.

O cavalo era mantido em fazenda em contacto com bovinos dentre os quais havia reagentes a brucelose.

Para o exame laboratorial foi coletado, * por punção asséptica, o conteúdo líquido da tumoração que revelou ser exsudato sero-mucoso com depósito de flocos de fibrina e uma amostra de sangue.

A sôro-aglutinação para o diagnóstico da brucelose revelou apenas reação suspeita, com título 1:50.

O exame bacterioscópico revelou a presença de bactérias em forma de cocos, isolados, gram positivos.

O exame bacteriológico n.º 34/59 possibilitou tão sòmente o isolamento de amostra de *Staphylococcus aureus*.

Diagnóstico provável de brucelose crônica com bursite contaminada por *Staphylococcus aureus*, dada a reação suspeita da sôro-algutinação, a cronicidade do caso e a possibilidade de ter havido infecção secundária pelas repetidas punções anteriores.

C A S O n.º 6

Tratava-se de equino, fêmea, 6 a 7 anos de idade, pelagem tordilha clara, em estado regular de nutrição, procedente de Piranema, Município de Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro.

O animal pertencia a um sitiante e tendo sido internado no Hospital Veterinário da Escola Nacional de Veterinária por um portador, não nos foi possível obter informes sôbre os antecedentes da doença, na ocasião. O exame clínico revelou um difuso aumento de volume na região da cernelha, inicialmente mais pronunciado no lado direito, muito sensível, temperatura local aumentada, consistente ao tacto porém com pequena área flutuante. A punção revelou presença de exsudato muito espêsso, de aspecto mucoso e em pequena quantidade. A tumoração cresceu ràpidamente e em 8 dias houve fistulização. Aproximadamente 14 dias após formou-se grande abaulamento no lado esquerdo que também se tornou flutuante e terminou fistulizando.

O exame sorológico para brucelose revelou reação positiva com título de 1:400 na sôro-aglutinação.

O exame bacterioscópico deixou ver massas fibrinosas e grande quantidade de piócitos, em sua maioria íntegros. Com as colorações de Köster e Stableforth foram vistos agrupamentos de estruturas bacterianas extracelulares com caracteres morfológicos de *Brucella*.

O exame bacteriológico n.º 38/60 permitiu o isolamento da *Brucella abortus*, em cultura pura, e com grande riqueza em colônias por placa, ao contrário do que se verificou nos demais casos.

Diagnóstico: Brucelose com bursite brucélica e isolamento da *Brucella abortus*.

B. Incidência da infecção em equídeos aparentemente normais

Ao lado dos casos de brucelose em equídeos com processos localizados como os acima descritos, procuramos obter dados sôbre a incidência da infecção brucélica, sob forma assintomática ou latente, em nosso meio, em equídeos aparentemente normais, porém expostos ao contato, nas mesmas pastagens, com bovinos de rebanhos contaminados com a brucelose. Coletamos um total de

---

* Material coletado pelo nosso colega Dr. Nelson de Oliveira Seabra, a quem consignamos os nossos agradecimentos.

230 amostras de sangue, em vários estabelecimentos pastoris, que examinado pela reação da sôro-aglutinação revelou o seguinte resultado:

Animais reagentes com título de 1:200	3
Animais reagentes com título de 1:100	3
Animais com reação suspeita, título 1:50	12
Animais não reagentes	212
Total	230

Por outro lado, em rebanho de 40 éguas de cria que não têm contato com bovinos, não foi encontrado nenhum reagente para brucelose.

Verificamos assim que apenas 2,6% dos animais examinados reagiram com títulos iguais ou superiores a 1:100 na prova da sôro-aglutinação para diagnóstico da brucelose.

IV. COMENTÁRIOS

De modo geral, nossas observações situam-se dentro do quadro nosológico da brucelose dos equídeos e mostram assim também facetas típicas sobressaindo os sintomas clínicos gerais e as formas localizadas na cernelha e na nuca, as reações sorológicas positivas, o isolamento de culturas puras da *Brucella abortus* e o provável contágio de bovinos contaminados.

O isolamento das 4 amostras de *Brucella abortus* foi obtido em cultura pura diretamente do material coletado do conteúdo das bursites. As semeaduras incubadas em atmosfera de CO_2 revelaram, após 48 a 72 horas, o aparecimento de pequenas colônias, esféricas, brilhantes e transparentes, mas que pouco a pouco, com o desenvolvimento tomavam pigmento amarelado a ponto de tornarem-se foscas. O exame bacterioscópico destas colônias mostrou tratar-se de bactérias muito pequenas, isoladas, com forma de cocobastonetes e gram negativas. Coradas pelo método de Köster tomavam a coloração vermelha vivo brilhante e, pelo método de Stableforth tingiam-se de vermelho mais intenso. Cumpre assinalar que em nossas observações, casos 1, 2 e 4, o número de colônias, resultantes da semeadura direta, por placa era muito escasso o que justifica também o exame bacterioscópico negativo destes casos, enquanto que, no caso 6, cujo exame microscópico dos esfregaços já revelou, ao lado das massas de fibrina e riqueza em polimorfonucleares, aglomerados de bactérias de *Brucella*, o número de colônias bacterianas aproximou-se de mil por placa, semeadas nas mesmas condições. Hedström e Olson [33] referem-se sôbre o fato de encontrarem maiores concentrações de *Brucella* em bursites com exsudato purulento do que em processos inflamatórios serosos comumente encontrados, o que coincide com as nossas observações.

Na identificação sorológica, as 4 amostras isoladas reagiram especìficamente com sôros padronizados da *Brucella abortus*. Comportamento idêntico foi observado com as mesmas amostras reisoladas do tecido esplênico após a passagem em cobaios.

Observamos também, pela anamnésia dos casos 3 e 4, a confirmação da possibilidade de equídeos portadores de lesões localizadas constituirem fonte de contágio para bovinos de fazendas indenes [2, 21, 49, 84], pois os casos citados mostram que os animais foram adquiridos já com bursites na cernelha e cuja fistulização poderia contaminar a nova propriedade. O nosso homem do campo deverá conhecer o perigo da introdução da brucelose por meio do cavalo, o que também deve ser levado em consideração no tocante ao combate e contrôle da brucelose bovina pelos sanitaristas.

Analizando os possíveis fatôres responsáveis pela baixa incidência de infecções brucélicas revelado nos exames sorológicos de equídeos mantidos em pro-

miscuidade com bovinos de rebanhos contaminados, em nosso meio, julgamos que o sistema de criação extensivo, sem grandes densidades populacionais nos campos; que o clima tropical, dispensando em grande parte do país o abrigo de equídeos e bovinos em estábulos comuns, como o acontece nos países de climas frios; que nos campos, em sua maioria desmatados, há falta de sombras o que vem favorecer a ação dos raios solares sôbre a *Brucella* disseminada nas pastagens em casos de abôrtos e nos subseqüentes corrimentos uterinos ainda contagiantes, sejam fatôres que diminuem a exposição dos equídeos à brucelose assim mantidos em pastagens comuns, porém não excluem a possibilidade de infecções ocasionais.

Por sua vez, a baixa incidência de infecções assintomáticas ou latentes nas condições por nós observadas, vem corroborar com o achado de pequeno número de casos de brucelose com formas localizadas encontradas em nosso meio.

V. RESUMO

Os autores fazem revisão bibliográfica da brucelose dos equídeos domésticos e descrevem a doença com processos localizados em 5 cavalos e em 1 muar, dos quais em 5 a lesão se encontrava na região da cernelha e em apenas 1 animal na região da nuca. Em 4 destes casos foi confirmado o diagnóstico com o isolamento da *Brucella abortus* do exsudato inflamatório das bursites.

As observações relatadas situam-se dentro do quadro nosológico da brucelose dos equídeos e mostram aspectos típicos como os sintomas clínicos gerais, as lesões localizadas, os resultados do exame sorológico e do exame bacteriológico, bem como a provável fonte de contágio que deve estar relacionada com o contacto de bovinos contaminados com a brucelose.

Os autores também procuraram obter dados, por meio de reações sorológicas, sôbre a incidência de infecções brucélicas assintomáticas ou latentes, em equídeos aparentemente normais expostos ao contacto, nas mesmas pastagens, com bovinos de rebanhos contaminados com a brucelose. Verificaram que apenas 2,6% dos animais reagiram com títulos iguais ou superiores do que 1:100, o que corrobora o raro achado de casos de brucelose em equídeos com processos localizados em nosso meio. Analizam os fatôres peculiares do meio e as práticas zootécnicas utilizadas que devem diminuir a exposição à infecção, em relação às de outros países, porém não excluem infecções ocasionais.

Chamam atenção sôbre a importância sanitária da brucelose dos solípedes no combate e contrôle da brucelose bovina, considerando-se que os equídeos podem ser veículos de disseminação da doença em nosso meio.

VI. AGRADECIMENTOS

Queremos consignar nossos agradecimentos ao Prof. Dr. Leonhard Riedmüller, Chefe da Secção de Zoonoses Bacterianas do Instituto de Biologia Animal, pela preciosa orientação na realização do presente trabalho, bem como ao Sr. Diretor do Instituto de Biologia Animal, Dr. Jayme Lins de Almeida, pelo interêsse e valioso apoio recebido.

EQUINE BRUCELLOSIS. THE ISOLATION OF *BRUCELLA ABORTUS* OF WITHERS BURSITES IN BRAZIL

Abstract

The authors review the literature on equine brucellosis and describe the disease with localized processes in 5 horses and in one mule. In 5 of them the

lesions were on the withers and only in one on the poll. In 4 of these cases the diagnosis was confirmed by the isolation of *Brucella abortus* from the inflammatory exudate from the bursites. The observations described here are in accordance with the nosological picture of equine brucellosis. The clinical symptoms and the localized lesions, as well as the results of serological and bacteriological examinations, are typical manifestations of the disease. The probable source of infection is due to contact with contaminated bovines.

The authors also collected data on the incidence of assymptomatic or latent brucellosis infections in apparently normal equines exposed to contact with cattle with brucellosis, grazing on the same pastures, by means of serological reactions. Only 2.6% of the animals reacted with dilutions as high as 1:100 or more. This fact supports the rare finding of localized brucellosis lesions in equines, in our conditions. The authors analysed same peculiar environment factors and the general husbandry practices adopted here, and think that these lessen the exposure of equine to the disease in relation to that of other countries, but that these factors do not exclude the occasional infection.

The authors call attention to the sanitary importance of brucellosis in equines in the combat and control of brucellosis in cattle, as possible disseminators of the disease.

VII. REFERÊNCIAS

1) ALICE, F.J. (1950).—Notas sôbre a incidência da brucelose na Bahia. *Rev. Milit. Rem. Vet.*, *10*(3): 69-73.
2) AMMANN, K. & HESS, E. (1946).—Die Banginfektion des Pferdes. *Schweiz. Arch. Tierheilkde.*, *88*: 285-305; 333-344.
3) BATTELLI, C. (1946).—Ricerca di agglutinine per la brucelle sul siero di sangue degli equini dell'Eritrea, *Boll. Soc. ital. Med. Ig. trop.*, *6*: 93-96. Em *Vet. Bull.*, 1947/2228.
4) BENNETTS, H.W. & FILMER, J.F. (1931).—A Note on the Association of *Brucella abortus* with Suppurations in the Horse. *Austr. Vet. Jour.*, *7*: 74-75.
5) BERGE, E. & HAUPT, H. (1937).—Über das Vorkommen von Abortus-Brucellose bei Pferden Mitteldeutschlands und ihre Bedeutung bei Widerrist und Genickfisteln. *Berl. Tierärztl. Wschr.*, *23*: 97-100.
6) BIAZHEVICH, I.V. (1938).—Diagnosis and Prevention of Equine Brucellosis. *Trud. vet. Fak. Vologda sel'skokhoz. Inst.*, *2*: 3-13. Em *Vet. Bull.*, 1942/440.
7) BÜLOW (1936).—Sprunggelenksentzündung durch *Brucella abortus Bang* bei einer jungen Remonte. *Zeitschr. Vet. kde.*, *48*: 105-112.
8) BURKY, E.L.; THOMPSON, R.R. & ZEPP, H.M. (1939).—The Role of *Brucella* in Human and Animal Ocular Disease with Special Reference to Periodic Ophthalmia in Horse. *Amer. Jour. Ophthalmol.*, *22*: 1210-1217.
9) CALDAS, A.D. & RIBEIRO, L.O.C. (1958).—Ocorrência da brucelose equina no Estado de São Paulo causada pela *Brucella abortus*. *O Biológico*, *24*(3): 46-49.
10) CARPENTER, C.M. & BOAK, R.A. (1937).—The Significance of the Horse in Brucellosis. *Jour. Bact.*, *33*(1): 40.
11) CASPARIUS (1941).—Die Behandlung der Druckschäden und der Widerristfisteln mit Hyperämie und dem Antivirus Antipiol. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, *49*: 267.
12) DEEM, A.W. (1937).—*Brucella abortus* in Horses. *Jour. Infect. Dis.*, *61*: 21-25.
13) DELBE, P. (1935).—La brucellose des équidés. Étude clinique et experimentale. *Thesis*, Alfort. Em Vet. Bull., 1939/297.
14) DEL VECCHIO, G. (1936).—Porcine and Equine Brucellosis in the Province of Bari, Italy. *Igiene. mod.*, *29*: 53-59. Em *Vet. Bull.*, 1937/368.
15) DUFF, H.M. (1933).—*Brucella abortus* in the Horse. *Jour. Comp. Path. Ther.*, *46*: 42-46.
16) DUFF, H.M. (1936).—Fistulous Wither and Poll-Evil due to *Brucella abortus*. *Vet. Rec.*, *16*: 175-181.
17) DUFF, H.M. (1937).—*Brucella abortus* in the Horse. *Jour. Comp. Path Ther.*, *50*: 151-158.
18) EBNER (1935).—Atypische Brucellose bei einem Pferde. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, *43*: 547-548.
19) FITCH, C.P.; DELEZ, A.L. & BOYD, W.L. (1930).—Preliminary Report on the Relation of *Bact. Abortus Bang* to Fistula, Poll-Evil and other Suppurations of Horses. *Jour. Amer. Vet. Med. Ass.*, *76*: 17-22.
20) FITCH, C.P.; BISHOP, L. & BOYD, W.L. (1932).—Report of further Work on the Relation of *Bact. Abortus Bang* to Fistula and Poll-Evil of Horses. *Jour. Amer. Vet. Med. Ass.*, *80*: 69-79.

21) FITCH, C.P. & DODGE, R.E. (1939).—Horses as possible Means of Spread of Bang's Disease among Cattle. *Cornell Vet., 29*: 29-30.

22) FLATLA, J.W. (1939).—Brucellosis in Horses. *Norsk. Vet. tidskr., 51*: 37-51. Em *Ve. Bull.*, 1941/496.

23) FONTAINE & LÜTJE (1919).—Beiträge zur Spezifitätsfrage der Komplementbindungsmethode bei der Rotzkranheit. *Zeitschr. Vet. kde., 31*: 15. Cit. por MAGNUSSON (53).

24) FOUDRAT, J. (1934).—Contribution à l'étude des bursites du garrot dues à *Brucella abortus*. *Diss.*, Lyon. Cit. por HESS (34).

25) GUERDEN, L.M.G.; BOUCKAERT, J.H. & WILLEMS, A.E.R. (1940).—Brucella Infection in Horses with Poll and Wither Hygroma. *Vlaam. Diergeneesk. Tijdschr., 9*: 145-154. Em *Vet. Bull.*, 1943/160.

26) GILDE, H. (1935).—Die Bangbrucellose des Pferdes als Ursache von Widerrist und Genickleiden. *Inaug. Diss.*, Berlin. Em *Vet. Bull.*, 1936/641.

27) GILYARD, A.T. & GILYARD, R.T. (1943).—Therapy in Fistulous Withers. *Jour. Amer. Vet. Med. Ass., 102*: 204-207.

28) GOLUBEV, J.E. (1939).—Die Empfänglichkeit der Pferde zu verschiedenen Brucellatypen. *Sovet. vet., 2*: 23-24. Cit. por AMMANN & HESS (2).

29) GOLUBEV, J.E. (1939).—Der normale Titer im Blut der Pferde mit Brucellose Antigen. *Sovet. vet., 5*: 31-34. Cit. por AMMANN & HESS (2).

30) GOLUBEV, J.E. (1940).—Klinik der Pferdebrucellose. *Sovet. vet., 17*: 43-55. Cit. por AMANN & HESS (2).

31) GRADINAZZI, L. (1936).—Contributi dell'infezione spontanea da *Brucella abortus* nell cavallo. *Clin. vet., Milano, 59*: 52-59. Em *Vet. Bull.*, 1939/224.

32) HAJDU, G. (1936).—*Brucella* Infection in Horses in Hungary. *Thesis*, Budapest. Em *Vet. Bull.*, 1940/163.

33) HEDSTRÔM, H. & OLSON, A. (1943).—Brucellos hos häst. *Skand. Vet. Tidskr., 33*: 207-227. Em *Vet. Bull.*, 1944/188.

34) HESS, E. (1943).—Die Brucellose des Pferdes. *Festschrift. O. Bürgi*, Zürich, 158-164.

35) HIERONYMI, E. (1932).—Die Brucella-Bang-Infektion des Pferdes und ihre Beziehung zu chirurgischen Leiden in der Widerrist und Genickgegend. *Dtsch. Tierärztl. Wschr., 40*: 593-595.

36) HIERONYMI, E. (1934).—Die Brucella-Bang-Infektion beim Pferde als Ursache von Widerrist und Genickfisteln. *Zeitschr. Inf. Krankh. Hyg. Haustiere, 47*: 24-47.

37) HIERONYMI, E. (1937).—Untersuchungen über tierische Brucellosen. *Schriften. Königsb. Gelehrten Gesellschaft*, Heft 2. Cit. por AMANN & HESS (2).

38) HIERONYMI, E. (1936).—Die Brucellose des Pferdes. *Dtsch. Tierärztl. Wschr., 44*: 808-810.

39) HIPOLITO, O.; SOUZA, R. & GIOVINE, N. (1943).—Brucelose e sôro-aglutinação em Minas Gerais. *Arq. Esc. Sup. Vet.*, Minas Gerais, *1*: 31-34.

40) HOEDEN, J. Van Der (1931).—Further Investigations regarding *Brucella* Infection in Horses. *Tijdschr. Diergeneesk., 58*: 1321-1330. Em *Vet. Bull.*, 1932/321.

41) HOEDEN, J. Van Der (1932).—Brucella-Bang-Infektion beim Pferde. *Zeitschr. Inf. Krankh. Hyg. Haustiere, 42*: 1-39.

42) HULTEN, O. (1931).—Bang Infection in a Horse. *Svensk. Vet. Tijskr., 38*: 25-27. Em *Vet. Bull.*, 1931/198.

43) JOHANSSON, S. (1933).—Febris ondulans hos häst. *Svensk. Vet. Tijskr., 38*: 283-303.

44) KAEBERLE, M.L. & PHILLIPS, T.N. (1959).—Fistula of the Withers: A Case Report. *Illinois Vet., 2*: 15-16.

45) KARLSON, A.G. & BOYD, W.L. (1940).—Brucellosis in Horses. A Study of Five Cases without Clinical Symptoms. *Jour. Amer. Vet. Med. Ass., 97*: 576-580.

46) LANFRANCHI, A. & PACCHIONI, G. (1934).—Contributo sperimentale e clinico alla infezione da *Brucella abortus* negli equini e negli ovini. *Nuova Vet., 12*: 165-171.

47) LANFRANCHI, A. (1938).—Brucellose beim Pferde. Das undulierende Fieber als Komplikation bei der Brustseuche. *Nuova Vet., 16*: 303-309.

48) LESKOVA, R. (1937).—Positive Bacillus-Abortus-Bang-Agglutinationen bei Pferden in Wien. *Wien. Tierärztl. Mschr., 24*: 225-233.

49) LOGSDON, C.D. (1939).—Equine Reservoire of Bang's Disease. *North. Amer. Vet., 20*(4): 42-44.

50) LORSCHEID, W. (1937).—Abortus-Bang beim Pferd. *Berl. Tierärztl. Wschr., 23*: 260-262.

51) LOUSSE, A. (1937).—Un cas de brucellose équine à localisation sternale. *Ann. Méd. Vet., 82*: 413-416.

52) LUTJE (1936).—Über die Brucellose des Pferdes. *Dtsch. Tierärztl. Wschr., 44*: 815-816.

53) MAGNUSSON, H. (1933).—Bursitiden mit Brucella-Infektion beim Pferd. *Münch. Tierärztl. Wschr., 40*: 474-476.

54) MCNUTT, S.H. & MURRAY, C. (1924).—*Bacterium abortus* (Bang) Isolated from the Fetus of an Aborting Mare. *Jour. Amer. Vet. Med. Ass., 18*: 215-216.

55) MESSIERI, A. (1940).—Sul potere abortigeno della *Brucella abortus bovis* nella specie equina. *Boll. Sez. ital. Soc. int. Microbiol., 12*: 168-172. Em *Vet. Bull.*, 1943/8.

56) NICKEL, R.; SCHUMMER, A. & SEIFERLE, E. (1954).—*Lehrbuch der Anatomie der Haustiere*. Vol. I. Verl. Paul Parey, Berlin.

57) OLSSON, L. (1943).—Ett fall av brucellos hos häst. *Skand. Vet. Tidskr., 33*: 228-234. Em *Vet. Bull.*, 1944/188.

58) PACHECO, G. (1945).—Brucelose equina no Brasil. *Bol. Soc. Bras. Med. Vet., 14*: 3-5.

59) PANISSET, L. & DELBE, P. (1932).—Le bacille de Bang, *Brucella abortus*, agent pyogène chez de cheval. *Rev. gèn. Méd. vet., 41*: 670-675.

60) PANISSET, L. & DELBE, P. (1935).—Contribution à l'étude de l'action pathogène de *Brucella abortus* pour le cheval. Essai sur la pathogenie de la brucellose équine. *Bull. Acad. Vet. Fr., 8*: 119-124.

61) PAPALEO, L. (1942).—Sulla resistenza della *Brucella abortus* nelle sabbie litorane messinese in repporto alla pratica delle "sabbiature". *Nuova Vet., 21*: 54-58.

62) PEAN, E. (1936).—Contribution à l'étude de la brucellose des équides. *Thesis*, Alfort. Cit. por HESS (34).

63) PRITULIN, P.I. (1952).—Methods of Diagnosing *Brucella* Infection in Horses. *Veterinarya*, Moscow, *29*(9): 28-29. Em *Vet. Bull.*, 1953/2204.

64) RINJARD, P. & HILGER, A. (1928).—Le maladie de Bang chez les équides. *Bull. Acad. Vét. Fr., 1*: 272.

65) RODERICK, L.M.; KIMBALL, A.; MCLEOD, W.M. & FRANK, E.R. (1947).—A Study of Equine Fistulous Withers and Poll-Evil. *Amer. Jour. Vet. Res., 9*: 5-10.

66) ROSSI, P. (1951).—Brucellose équine. Son aspect actuel; son traitement par l'antibiothérapie et par la chimiothérapie. *Rec. Méd. Vét., 127*: 26-35.

67) RUSSO, E. (1945).—Da significação da sôro-aglutinação na brucelose dos equídeos. Nota prévia. *An. III Congr. Bras. Vet.*, Pôrto Alegre, pgs. 598-611.

68) SALIES, P. (1949).—Contribuição da adoção de um método de profilaxia da brucelose bovina no Rio Grande do Sul. *Tése*, Esc. Agr. Vet. Univ. Rio Grande do Sul, pg. 93.

69) SAXER, E. (1945).—Neuere Erfahrungen auf dem Gebiete der Brucellosen. *Schweiz. Arch. Tierheilkde, 87*: 316-321.

70) SCHELLNER (1934).—Über die Brucellose des Pferdes. Experimentelle Untersuchungen. *Tierärztl Rdsch., 40*: 762-764. Em *Vet. Bull.*, 1935/261.

71) SCHILLING, K. & SCHMID, G. (1935).—Über einen Fall von Brucella-Bang-Infektion bei einem Pferd mit Widerristschaden. *Schweiz. Arch. Tierheilkde, 77*: 312.

72) SCHOOP, G. (1932).—Bangbakterieninfektion bei Widerristfistel und Genickbeule des Pferdes. *Dtsch. Tierärztl. Wschr., 40*: 520-522.

73) SCHOOP, G. (1935).—Brucellosen beim Pferd. *Dtsch. Tierärztl. Wschr. 43*: 547-548.

74) SCZUKA, H. (1938).—Beitrag zur Sero-Diagnose der Pferdebrucellose. *Diss.*, München. Cit. por AMMANN & HESS (2).

75) SCZUKA, H. (1940).—Beitrag zur Sero-Diagnose der Pferdebrucellose. *Mitt. Bakt. Serum Inst. Landsberg, 24*: 46. Cit. por AMMANN & HESS (2).

76) STEWARD, J.S. (1935).—Fistulous Withers and Poll-Evil. Equine and Bovine Onchocerciasis Compared with an Account of the Life Histories of the Parasites Concerned. *Vet. Rec., 15*: 1563-1575.

77) STONE, W.S. (1938).—Brucellosis in Horses. *Cornell Vet., 28*: 91-98.

78) STONE, W.S. (1941).—Brucellosis in Horses and Goats. *Jour. Amer. Vet. Med. Ass., 99*: 118-120.

79) STUBBS, E.L. & LOVE, W.G. (1941).—Studies on the Relationship of Brucellosis to Periodic Ophthalmia. *Jour. Amer. Vet. Med. Ass., 99*: 476-481.

80) SUMNER, H. (1942).—The Use of *Brucella abortus* Vaccine in Fistulous Conditions in Horses. *Vet. Rec., 54*: 257-258.

81) TAYLOR, A.W. (1939).—A Note on the Occurence of Brucellosis Abortus Agglutinins in Farm Horses in the East of Scotland. *Jour. Comp. Path., 52*: 140-143.

82) UEBERREITER, O. (1944).—Onchocercenbefunde bei Widerrist und Genickfisteln des Pferdes. *Zeitschr. Vet. kde., 56*: 22. Cit. por AMMANN & HESS (2).

83) VICHELESKY, S.N. & BOBILEVA, E.A. (1935).—Diagnosis of *Brucella* Infection in the Horse. *Sovet. vet., 1*: 43-48. *Em Vet. Bull.*, 1935/829.

84) WHITE, G.C. & SWETT, P.P. (1935).—Bang's Disease Infection Transmitted to a Dairy Herd by Horses. *Jour. Amer. Vet. Med. Ass., 87*: 146-150.

85) WRIGHT, J.G. (1946).—The Cirurgical Treatment of Bursites of the Equine Poll and Withers. *Vet. Rec., 58*: 93-97.

86) ZANTINGA, J.T. (1941).—Brucellosis in Horses. *Tijdschr. Diergeneesk., 68*: 68-83. Em *Vet Bull.*, 1942/574.

87) ZARNIC, J. (1941).—Brucellosen der Pferde in Jugoslavien. *Jugosl. Vet. Glasnik., 21*: 41-55. Cit. por AMMANN & HESS (2).

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 49-63
1961 — Min. Agricultura, Brasil

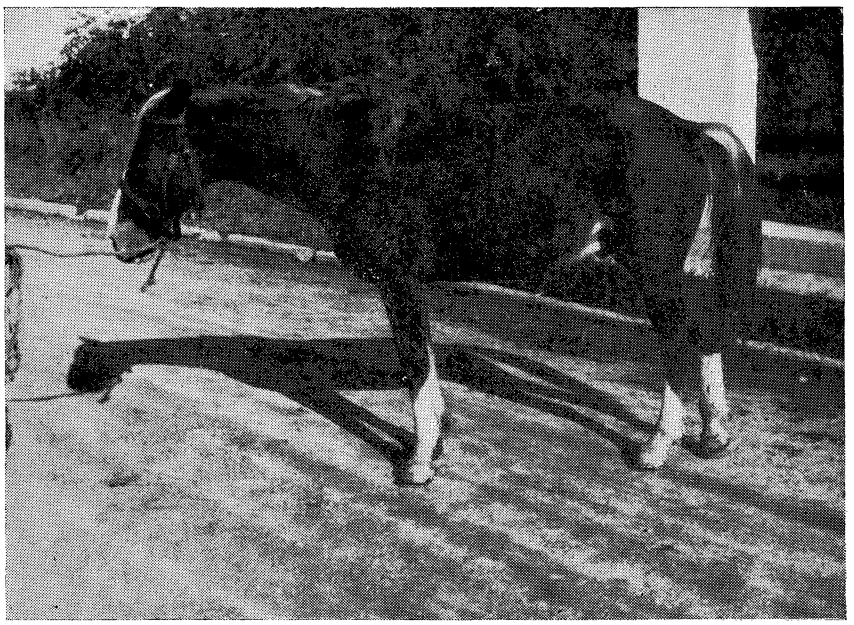


Fig. 1: *Caso n.º 1, mostrando o abaulamento na cernelha sob forma de calota esférica.*

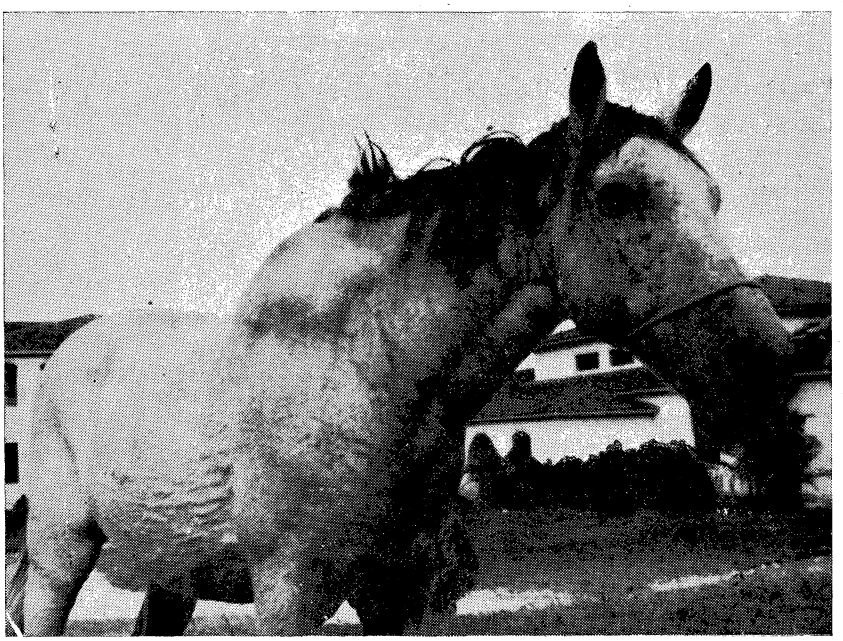


Fig. 2: *Caso n.º 4, notando-se volumosa deformação na região da cernelha demarcada por nítidos relevos.*

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 65-76
1961 — Min. Agricultura, Brasil

OCORRÊNCIA DE CESTÓDIOS EM EQUÍDEOS NECROPSIADOS NA ESCOLA NACIONAL DE VETERINÁRIA *

PAULO DACORSO FILHO **, JEROME LANGENEGGER *** e JOSÉ HENRIQUE GUIMARÃES ****

I. INTRODUÇÃO

A partir de 1916, com o registro em a literatura nacional, por Horta [16], sôbre o achado da *Anoplocephala perfoliata* (Goezes, 1782) parasita de equídeos do Rio de Janeiro, vêm sendo assinalados casos da infestação por êste cestódio em várias regiões do Brasil. No entanto, menos freqüentemente a literatura autóctone registra a infestação por *Anaplocephala magna* (Abildgaard, 1789) e, constituindo raridade, a por *Paranoplocephala mamillana* (Mehlis, 1831).

Admitindo-se na literatura nacional a omissão dos casos isolados de observações sôbre estas três parasitoses, por parte de veterinários sanitaristas ou por outros pesquisadores que não publicam os seus achados, ela reflete assim mesmo a pouca freqüência com que estas três espécies parasitárias ocorrem em nosso meio e a reduzida importância econômica que estas infestações representam para o rebanho equino. O mesmo não se deve aceitar em relação ao estudo biológico dêstes cestódios, pois desconhecendo-se ainda parte do seu ciclo evolutivo, não faltará o interêsse para o conhecimento de fatores circunstanciais que possam contribuir para determinados estudos.

Com o intuito de concorrer para o melhor conhecimento da distribuição geográfica, do grau da infestação por indivíduo parasitado, da incidência de espécies parasitadas e do achado de lesões anátomo e histo-patológicas resultantes destas parasitoses no Brasil, queremos apresentar nossas observações, sôbre um total de 142 equídeos necropsiados na Escola Nacional de Veterinária, Rio de Janeiro, no período de 1950 a meados de 1961.

Revisão Bibliográfica

Compulsando-se a bibliografia brasileira sôbre a ocorrência da infestação de cestódios em equídeos, encontra-se em 1916 a primeira referência em que Horta [16] cita o achado da *Anoplocephala perfoliata* parasita de cavalos do Rio de Janeiro. Ainda em 1935, Pinto e Almeida [18] reportam-se tão sòmente à

---

* Entregue para publicação no dia 25 de maio de 1961.

** Professor Catedrático de Anatomia Patológica da Escola Nacional de Veterinária da Universidade Rural, Rio de Janeiro.

*** Assistente de Ensino Superior da Escola Nacional de Veterinária da Universidade Rural, Rio de Janeiro.

**** Estudante da Escola Nacional de Veterinária e Bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas junto à Cadeira de Parasitologia da Escola Nacional de Veterinária da Universidade Rural, Rio de Janeiro.

observação acima citada, em sinopse dos helmintos dos animais domésticos no Brasil.

Nova publicação sôbre o assunto apareceu em 1940 quando Carvalho [2] assinala a *Anoplocephala perfoliata* em Viçosa, Estado de Minas Gerais, e depois, em 1943, Freire [7], cita a mesma parasitose entre os helmintos encontrados nos animais domésticos do Estado do Rio Grande do Sul.

Também no ano de 1943, Gandra [13] identifica a *Anoplocephala magna,* em São Paulo, coletada de um cavalo puro sangue de corrida. Ainda no mesmo ano, mas publicado em 1945, Freitas [10] identifica a *Paranoplocephala mamillana,* em Belo Horizonte, Estado de Minas Gerais. Estavam então já conhecidas as 3 espécies de cestódios de equídeos no Brasil.

Outras observações posteriormente foram: Em 1946, Almeida e Moussatche [1], necropsiando cavalos recém-chegados da fronteira do Estado do Rio Grande do Sul e destinados à cavalhada do Exército do Rio de Janeiro, encontraram vários animais infestados por *Anoplocephala magna* cujos exemplares ainda se encontram conservados na Secção de Parasitologia do Instituto de Biologia Animal. Esta observação não foi publicada.

Em 1947, Corrêa [3] assinala, pela segunda vez na literatura autóctone, a *Paranoplocephala mamillana* no Estado do Rio Grande do Sul. Posteriormente [4] cita também a *Anoplocephala perfoliata*.

Também em 1947, Giovannoni e Kubiak [14] registram a *Anoplocephala perfoliata* e se referem a 1 caso de infestação por *Anoplocephala magna* em Curitiba, Estado do Paraná.

Em 1948 e posteriormente, Freire [8, 9] assinalou novamente a *Anaplocephala perfoliata* e também a *Anoplocephala magna,* em seu estudo sôbre a fauna zooparasitária riograndense. Porém coube a Gloss [15], em 1956, identificar pela primeira vez, no Rio Grande do Sul, a *Anoplocephala magna,* excluindo-se a observação inédita de Almeida e Moussatché [1].

Por esta época, Dupont [5] também encontrou alguns exemplares de *Anoplocephala magna* em cavalo puro sangue inglês, no Jóquei Clube do Rio de Janeiro, oriundo do município de Lorena, Estado de São Paulo. Esta observação também não foi publicada e um espécime acha-se na cadeira de Anatomia Patológica da Escola Nacional de Veterinária.

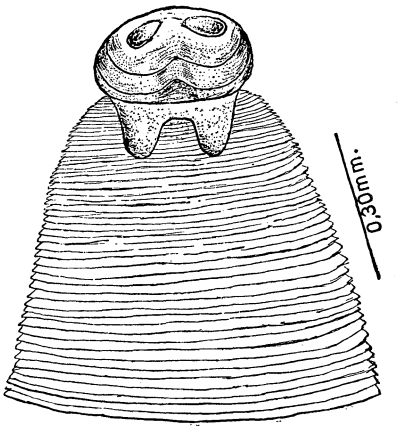
Nas duas excelentes listas de helmintos dos animais domésticos, Freitas [11], [12] confirma o achado da *Anoplocephala perfoliata* e da *Paranoplocephala mamillana,* esta por êle identificada em trabalho anterior, no Estado de Minas Gerais.

Por fim tomamos conhecimento de observações da infestação da *Anoplocephala perfoliata* no Estado de Mato Grosso, por meio de material dêste cestódio arquivado na Secção de Zoologia Médica do Instituto Oswaldo Cruz, e por outro, recentemente identificado por de nós (J.H.G.) na Escola Nacional de Veterinária, procedente do mesmo Estado.

Silva [19] achou a *Anoplocephala perfoliata* no Estado da Bahia em 1 asinino dentre 10 animais necropsiados.

Ainda em comunicação pessoal, Fernandes [6] informa-nos sôbre a ocorrência, relativamente freqüente, da *Anoplocephala perfoliata* em cavalos e jumentos, nos Estados de Pernambuco e do Ceará. Refere-se ter encontrado, em Pernambuco, a *Paranoplocephala mamillana* em dois cavalos dentre mais de uma centena de coletas.

Alguns Dados Morfológicos dos Três Cestódios Parasita de Equídeos



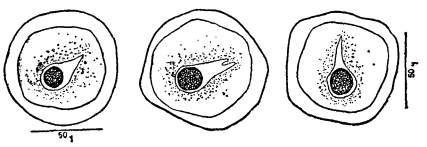
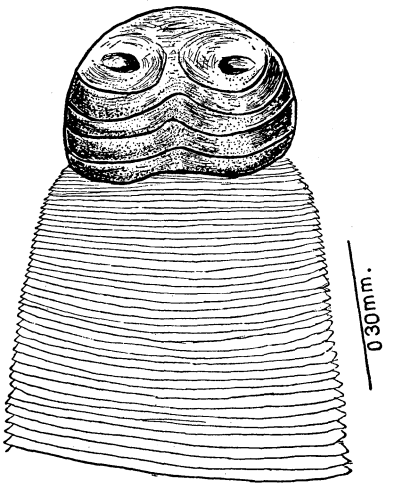


Fig. 1: *Extremidade anterior e ovos da* Anoplocephala perfoliata



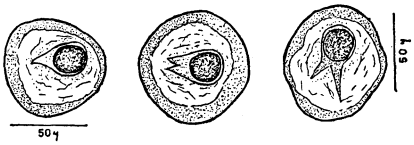


Fig. 2: *Extremidade anterior e ovos da* Anoplocephala magna

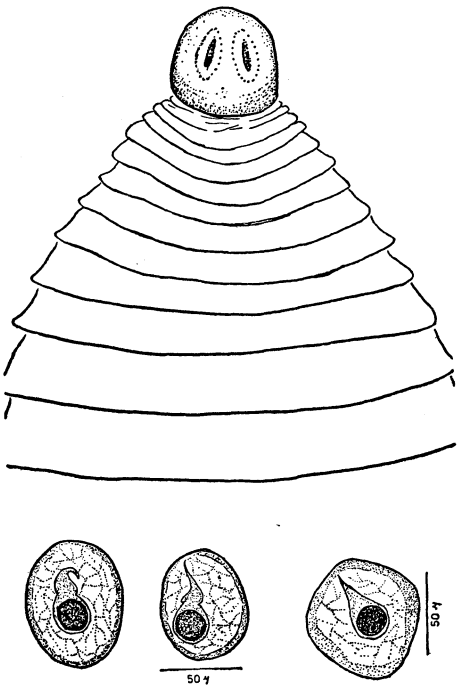


Fig. 3: *Extremidade anterior e ovos da* Paranoplocephala mamillana

Anoplocephala perfoliata

Os exemplares medem cêrca de 10 a 80 mm de comprimento por 10 a 20 mm de largura. O escolex apresenta um diâmetro de 2 a 3 mm, e vem provido com as 4 ventosas que se abrem na face anterior. Na base do escolex fazem saliência 4 apêndices digitiformes curtos, sendo 2 situados na face dorsal e 2 na face ventral. Os anéis, muito embricados, são mais largos na porção média do corpo, estreitando-se a medida que se aproximam dos anéis grávidos. Os ovos com cêrca de 60 a 80 micra de diâmetro, apresentam aparêlho piriforme bem desenvolvido. O parasita localiza-se no ceco, preferentemente próximo à papila íleo-cecal, podendo ser encontrada também no colo.

Anoplocephala magna

É o maior cestódio parasita de equídeos. O espécime adulto pode alcançar até 800 mm de comprimento por 20 mm de largura. O escolex é de forma globular, medindo 5 a 6 mm de diâmetro; apresenta as ventosas dirigidas para frente. Os proglotes são fracamente ligados entre si, rompendo-se com muita facilidade da cadeia, principalmente os anéis grávidos. Os ovos medem cêrca de 50 a 60 micra de diâmetro e apresentam o característico aparelho piriforme. O parasita é encontrado no intestino delgado e no ceco.

Paranoplocephala mamillana.

Apresenta as menores dimensões das três espécies em estudo. O seu tamanho médio varia, segundo diversos autores, entre 6 e 50 mm de comprimento por 4 a 6 mm de largura. O escolex tem forma elipsoide, ficando as ventosas situadas nas faces laterais; duas dorsalmente e duas ventralmente. As ventosas apresentam aberturas em forma de fendas longitudinais. Os proglotes são menos embricados e têm a forma trapezoidal, sendo que os mais maduros apresentam quase a forma quadrangular. Os ovos medem de 50 a 60 micra de diâmetro e também são providos de aparelho piriforme. O parasita encontra-se comumente no intestino delgado.

II. MATERIAL E MÉTODOS

Examinamos o total de 142 equídeos sendo 101 cavalos comuns de sela, 36 muares, 3 cavalos puro sangue inglês e 2 jumentos, procedentes, em sua maioria, dos arredores da Universidade Rural, município de Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro e alguns de municípios vizinhos do mesmo Estado; outros ainda oriundos do atual Estado da Guanabara.

Os animais, portadores das mais diversas afecções patológicas e com as mais variadas idades, foram necropsiados na Cadeira de Anatomia Patológica da Escola Nacional de Veterinária, para fins de ensino e de estudo, dentro do período de 1950 a meados de 1961.

No exame do conteúdo intestinal, após a abertura longitudinal do intestino e remoção das fezes de todo o trato entérico, foram colhidos os helmintos para a classificação zoológica * e selecionadas as porções lesadas do tubo digestivo para documentação fotográfica e estudo histopatológico.

O estudo parasitológico das três espécies de cestódios por nós encontradas serviu de base para a confecção dos esquemas dos escoleces e dos ovos, apresentados no presente trabalho.

* Realizado na Cadeira Parasitologia na Escola Nacional de Veterinária, sob a orientação do Professor Hugo de Souza Lopes.

III. RESULTADOS

A incidência da infestação por *Anoplocephala perfoliata, Anoplocephala magna* e *Paranoplocephala mamillana* e a sua distribuição nos diversos grupos de equídeos por nós necropsiados, vêm assinaladas no quadro abaixo.

EQUÍDEOS NECROPSIADOS	n.º	Inf. por *Anoplocephala perfoliata*	Inf. por *Anoplocephala magna*	Inf. por *Paranoplocephala mamillana*	Equideos parasitados
Cavalos comuns.....	101	17	1	1	19
Cavalos de corrida.	3	—	1	—	1
Muares.....	36	3	—	1	4
Jumentos.....	2	—	—	—	—
TOTAL.....	142	20 = 14,0%	2 = 1,4%	2 = 1,4%	24 = 16,9%

Observamos assim em 24 animais (16,9%) a infestação por cestódios, cujos achados serão discriminados por espécie.

A infestação por *Anoplocephala perfoliata* foi verificada em 20 casos sendo 17 em cavalos comuns e 3 em muares. Os parasitas foram encontrados, via de regra, no ceco próximo da papila íleo-cecal, outros no colo e só mais raramente no intestino delgado, geralmente fixos na parede da mucosa entérica. O grau de infestação por indivíduo era, em suma, leve não passando de 20 exemplares por animal infestado, não sendo nestes casos assinaladas lesões dignas de nota.

Em três casos, porém, a infestação poude ser considerada forte, tendo sido contados mais de 60 espécimes da *Anoplocephala perfoliata,* que se aglomeravam em áreas do ceco próximas à papila íleo-cecal, aderidos à mucosa entérica, provocando formações nodulares com saliências para a luz do intestino, de coloração avermelhada, ou ainda deixando pontos e áreas ulceradas com visível destruição da mucosa entérica.

O exame histológico das numerosas seções obtidas com êste material evidencia alterações idênticas na sua morfologia, havendo apenas variação na intensidade do processo inflamatório.

Nos casos com alterações mínimas, assinala a microscopia hiperplasia discreta das glândulas tubulosas retas de Lieberkühn, com aumento acentuado do número das células caliciformes mucíparas, observando-se espêssa camada mucinosa, basófila na superfície da luz intestinal. De permeio com êsse acúmulo mucinoso, vêem-se infiltrados leucocitários e por vêzes fibrina. Os leucócitos são predominantemente polimorfonucleares, quer neutrófilos quer eosinófilos, a maioria dos quais em necrobiose. Neste grau de infestação, é possível observar-se acúmulos de leucócitos entre as glândulas e na submucosa, a qual está espessada à custa de edema e hiperemia vascular, além dos infiltrados leucocitários.

Nas alterações mais intensas, já se observa necrose da zona mais superficial da mucosa, com coagulação dos tubos glandulares, acidofilia dos resquícios celulares e camada mais espessa constituída pela mistura de muco, leucócitos e de fibrina. Nestes casos os infiltrados leucocitários, a hiperemia e o edema são mais acentuados, principalmente na submucosa, cujos vasos se mostram congestos e envoltos por leucócitos, com grande predominância de eosinófilos.

Em outras áreas em que já se verifica macroscòpicamente, a presença de lesões erosivas e mesmo ulcerosas do intestino, as lesões são mais pronunciadas

e mais profundas. Nêsses casos são vistas áreas de extensão variável de destruição da mucosa, com exposição da "muscularis mucosae" ou mesmo da submucosa. Estas áreas ulceradas são ocupadas por massas necrobióticas em que se vêem leucócitos, fibrina, mucina, detritos celulares e colônias microbianas. O processo inflamatório é mais grave com forte edema da submucosa e dilatação dos vasos sanguíneos, muitos dos quais estão trombosados.

Finalmente no grau máximo as ulcerações são mais extensas, havendo na zona necrótica superficial, detritos celulares, leucócitos, colônias bacterianas e massas hialinas amorfas. Nas margens das zonas ulceradas observa-se hiperplasia de algumas glândulas tubulosas retas, a partir das células epiteliais dos fundos dessas glândulas, notando-se penetração da "muscularis mucosae" por tubos glandulares neoformados, ao lado de cordões celulares maciços oriundos dos mesmos fundos glandulares e que não chegam a ultrapassar a "muscularis mucosae". A submucosa está acentuadamente espessada, à custa de edema e da hiperemia dos vasos sanguíneos e dilatação dos vasos linfáticos, que constituem lacunas cheias de sangue, de fibrina ou de leucócitos. Freqüentemente vêem-se vasos dilatados, principalmente venosos, com trombos recentes na sua luz.

Os vasos arteriais submucosos e da serosa apresentam paredes espessadas, com edema e proliferação de elementos fibrosos subendoteliais, com redução da luz vascular e deposição de material basófilo homogêneo imediatamente sob o endotélio. A luz de alguns dêsses vasos arteriais se torna irregular pela hiperplasia assimétrica subendotelial. Os infiltrados celulares na submucosa são muito abundantes, predominando os eosinófilos e plasmócitos, quer em tôrno dos vasos, quer difusamente. As estruturas nervosas ganglionares da submucosa também estão dissociadas pelo edema e pelos infiltrados leucocitários, bem como as camadas musculares, predominando aqui os eosinófilos. A serosa, nestes casos mais graves, deixa ver vasos hiperemiados, com as alterações arteriais e arteriolares já descritas, a par de infiltrados leucocitários difusos ou mesmo perivasculares.

Verifica-se do conjunto das lesões descritas a presença de processos inflamatórios do grosso intestino, interessando nos casos mais simples apenas a mucosa e a submucosa e tôdas as camadas do órgão nas infestações mais graves, alcançando nestes casos até a ulceração extensa, com hiperplasia de glândulas nas bordas ulceradas, predominando nos infiltrados leucocitários os eosinófilos. Acentue-se o grande edema e os abundantes infiltrados leucocitários da submucosa com alterações vasculares freqüentes como hiperemia, trombose e ectasias linfáticas.

A infestação por *Anoplocephala magna* foi por nós observada uma vez, parasitando um cavalo de corrida procedente de haras do Estado do Rio de Janeiro, e outra vez um cavalo comum. Em ambos os casos foram encontrados apenas alguns exemplares do parasito localizado no intestino delgado, livres no meio das fezes, sem que houvesse lesão visível da mucosa entérica. Os espécimes eram pequenos medindo o maior apenas 12 cm de comprimento (Fig. 9).

A infestação por *Paranoplocephala mamillana,* foi por nós assinalada em um eqüino e em um muar, ambos procedentes da Prefeitura do Município de Itaguaí. A inspeção macroscópica revelou a presença de cestódios cujos tamanhos variavam de 2 a 5 cm de comprimento, mais delgados que os anteriormente descritos, com proglotes mais largos e afastados e com movimentos mais pronunciados do que os das duas espécies já estudadas. Os parasitos encontravam-se acolados às paredes da porção anterior do intestino delgado (Fig. 10). Foram observados mais de 40 exemplares em um dos casos, entretanto não havia lesões macroscópicas da mucosa entérica. O conteúdo intestinal era de aspecto mucoso. O exame histológico não revelou alterações dignas de nota.

IV. COMENTÁRIOS

Os dados da literatura compulsada, corroborados pelas nossas observações mostram que a *Anoplocephala perfoliata* é o cestódio mais encontrado no Brasil. Observa-se também que a *Anoplocephala magna* foi assinalada principalmente em cavalos de corrida puro sangue inglês e nos estados sulinos. Êste fato pode estar relacionado com a importação do cavalo de corrida de países em que predomina a infestação do citado cestódio, como é o caso nos Estados Unidos [37]. Ainda segundo a literatura autóctone, o achado da infestação por *Paranoplocephala mamillana* em animais por nós necropsiados, aqui no Estado do Rio de Janeiro, parece ser a quarta constatação desta parasitose, o que mostra a raridade do achado no Brasil.

Os dados bibliográficos e as comunicações pessoais sôbre a ocorrência das três espécies de cestódios dos equídeos, permitem mostrar a distribuição geográfica destas parasitoses em 8 Estados do Brasil, variando, no entanto, a inci-

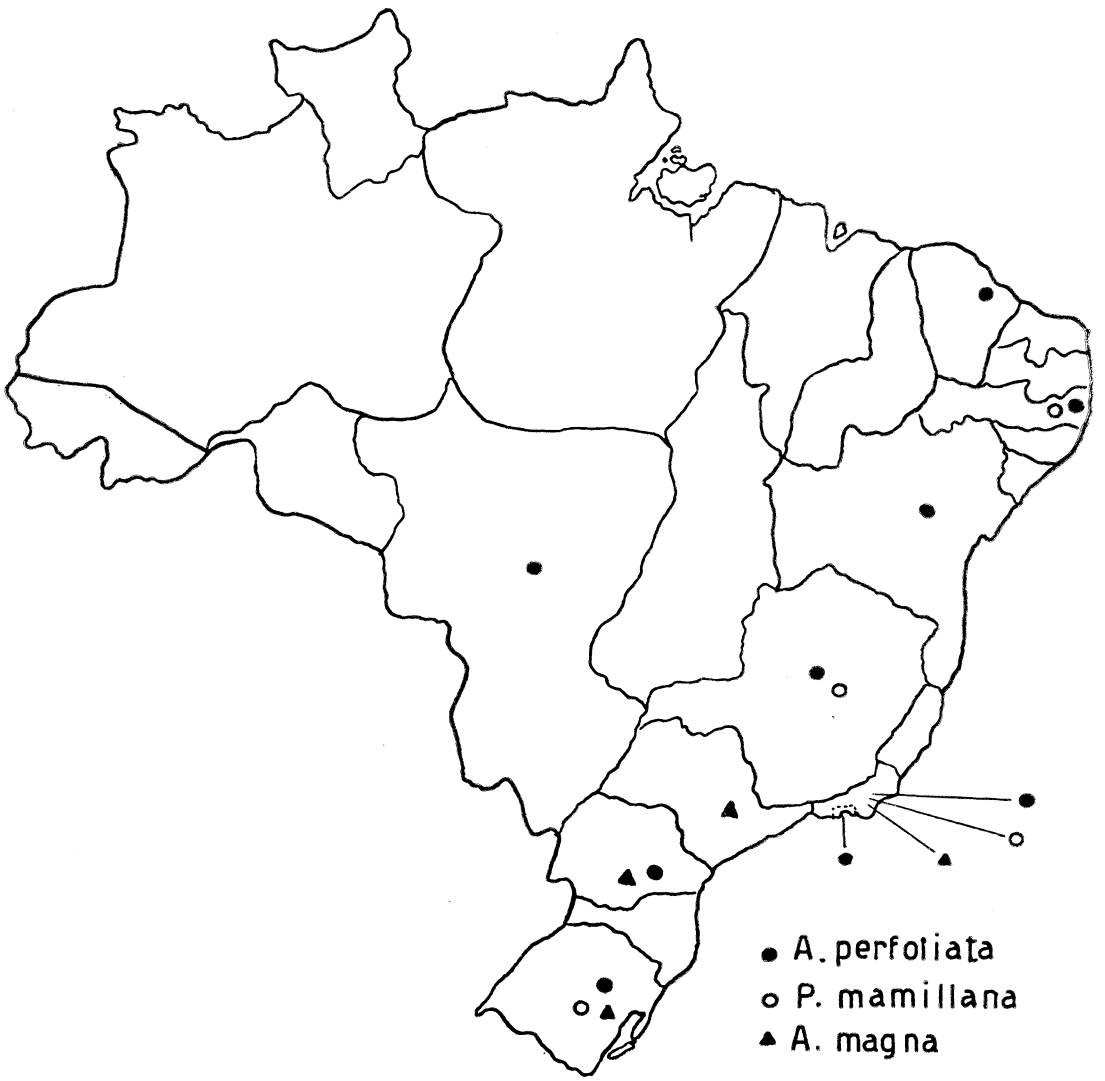


Fig. 4: *Mapa demonstrativo da distribuição geográfico das três espécies de cestódios parasitas dos eguídeos.*

dência das espécies como se pode ver no mapa demonstrativo (Fig. 4), ou seja: no Estado da Guanabara, antigo Distrito Federal foi assinalada apenas a *Anoplocephala perfoliata* por Horta [16]; no Estado do Rio de Janeiro acabamos de registrar as três espécies de cestódios, com grande predominância da *Anoplocephala perfoliata;* em Minas Gerais foi assinalada a *Anoplocephala perfoliata* [2] e a *Paranoplocephala mamillana* [10]; no Estado de São Paulo acha-se registrada apenas a *Anoplocephala magna* [13], devendo ser incluída a observação não publicada de Dupont [5] sôbre a mesma espécie parasitária; no Estado do Paraná acham-se assinadas a *Anoplocephala perfoliata* e a *Anoplocephala magna* [14] ao passo que no Rio Grande do Sul, as três espécies são conhecidas [7, 3, 15]. A *Anoplocephala perfoliata* ainda foi identificada no Estado do Mato Grosso, da Bahia, de Pernambuco e do Ceará. Em Pernambuco também já foi registrada a *Paranoplocephala mamillana* [6].

Verifica-se pelas publicações nacionais que o grau de infestação pode ser considerado leve e que não vêm sendo apontadas lesões entéricas causadas por êstes cestódios, razão porque pareceu-nos oportuno a descrição das alterações por nós observadas e documentadas em três casos de infestação por *Anoplocephala perfoliata*.

V. RESUMO

Os autores analisam a incidência da *Anoplocephala perfoliata* (Goeze, 1782), da *Anoplocephala magna* (Abildgaard, 1789) e da *Paranoplocephala mamillana* (Mehlis, 1831) no Brasil em que as infestações por êstes cestódios, dada a pouca freqüência com que ocorrem e o grau leve de infestação por indivíduo, não apresentam importância econômica para o rebanho eqüino.

Mostram suas observações sôbre estas parasitoses em 142 equídeos necropsiados, dos quais 24 (16,9%) se achavam infestados. A *Anoplocephala perfoliata* foi encontrada em 20 casos (14,0%), sendo em 17 cavalos comuns e em 3 muares; a *Anoplocephala magna* em 2 casos, sendo um em cavalo de corrida e um em cavalo comum; a *Paranoplocephala mamillana* também em 2 casos, sendo num cavalo comum e num muar.

Estudam ainda as lesões histolopatológicas da parede intestinal de três casos que apresentavam alterações macroscópicas devidas à infestação por *Anoplocephala perfoliata*.

THE OCCURRENCE OF CESTODES IN EQUINES SUBMITTED TO POST-MORTEM EXAMINATIONS AT THE ESCOLA NACIONAL DE VETERINARIA

Abstract

The authors studied the incidence of *Anaplocephala perfoliata* (Goeze, 1782), *Anoplocephala magna* (Abildgaard, 1789) and *Paranoplocephala mamillana* (Mehlis, 1831) in Brazil. These cestodes are considered of no economic importance in Brazil because of the low frequency that they occur here and of the mild individual grade of these infestations.

The authors presented their findings of 142 post-mortem examinations. In 24 cases (16,9%) they observed infestations by cestodes. *Anoplocephala perfoliata* in 20 cases (14.0%), of which 17 cases in saddle horses and 3 in mules; *Anoplocephala magna* in one thoroughbred horse and in one saddle horse; *Paranoplocephala mamillana* in one saddle horse and in one mule.

The authors studied the histological lesions of 3 cases of infestation by *Anaplocephala perfoliata,* in which there were macroscopic alterations of the intestines.

VI. REFERÊNCIAS

1) ALMEIDA, J.L. & MOUSSATCHE, I. (1946).—Comunicação pessoal.

2) CARVALHO, J.C.M. (1940).—Contribuição para o conhecimento da fauna helmintológica de Minas Gerais. *Ceres, Viçosa, 1*: 411-423.

3) CORRÊA, O. (1947).—Uma nova tênia do cavalo pela primeira vez classificada no Rio Grande do Sul. Um nôvo parasito do cão doméstico — *Physaloptera praeputialis*, von Linstow, 1889. *A Granja*, Pôrto Alegre, *26*: 19.

4) CORRÊA, O. (1952).—Incidência helmíntica em suínos, equinos, ovinos e bovinos no Rio Grande do Sul. *Mundo Agrícola*, Pôrto Alegre, *1*(2): 66-67.

5) DUPONT, O. (1956).—Comunicação pessoal.

6) FERNANDES, J.C. (1961.—Comunicação pessoal.

7) FREIRE, J.J. (1943).—Parasitos dos animais domésticos do Estado do Rio Grande do Sul. *An. II Congr. Bras. Vet.*: 123-128.

8) FREIRE, J.J. & DI PRIMIO, R.A. (1948).—Fauna zooparasitária riograndense. *Veterinária*, Rio de Janeiro, *2*: 36-44.

9) FREIRE, J..J (1958).—Fauna zooparasitária riograndense. *Rev. Esc. Agr. Vet.*, Pôrto Alegre, *2*(1): 7-42.

10) FREITAS, M.G. (1945).—"Anoplocephala mamillana" (Cestoda, Anoplocephalidae) em equinos no Brasil. *Rev. Bras. Biol., Rio de Janeiro, 5*(1): 87-90.

11) FREITAS, M.G. (1957).—Lista de helmintos parasitos dos animais domésticos de Minas Gerais. *Arq. Esc. Sup. Vet.*, Minas Gerais, *10*: 373-381.

12) FREITAS, M.G. & COSTA, H.M.A. (1959).—Lista de helmintos parasitos dos animais domésticos do Brasil. *Arq. Esc. Sup. Vet.*, Minas Gerais, *12*: 443-511.

13) GANDRA, Y.R. (1943).—Ocorrência no Brasil da *Anoplocephala magna* (Cestoda, Anoplocephalidae) parasita de equídeos. *Rev. Fac. Med. Vet.*, São Paulo, *2*(3): 165-168.

14) GIOVANNONI, M. & KUBIAK, G.V.L. (1947).—Fauna parasitológica paranaense. IV. Lista prévia da ocorrência de helmintos em animais domésticos. *Arq. Biol. Tec.*, Curitiba, *2*: 225-232.

15) GLOSS, R.M. (1956).—Primeira constatação da *Anoplocephala magna* (Abildgaard, 1789) no Rio Grande do Sul. *Bol. Dir. Prod. Anim.*, Pôrto Alegre, *13*(25): 3-4.

16) HOPTA, P.P. (1916).—Algumas notas sôbre parasitas de solípedes. Um caso de cyliostomose larvar, pp. 1-19. Cit. por PINTO & ALMEIDA (18).

17) MORGAN, B.B. & HAWKINS, P.A. (1953).—*Veterinary Helmintology*, Burgess Publishing Co., Minneapolis, U.S.A.

18) PINTO, C. & ALMEIDA, J.L. (1935).—Sinopse dos helmintos dos animais domésticos do Brasil. *O Campo*, Rio de Janeiro, *6*(8): 54-63.

19) SILVA, A.A.J. (1960).—Comunicação pessoal.

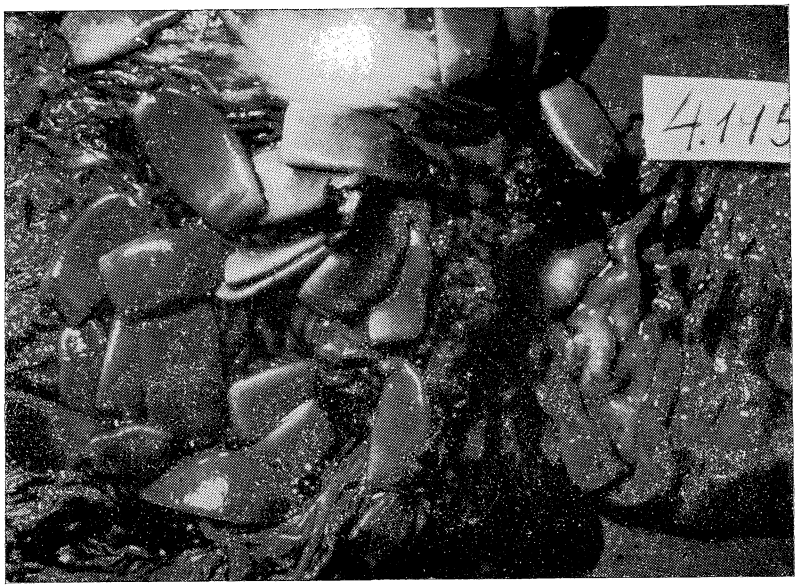


Fig. 5: *Exemplares de* Anoplocephala perfoliata *encontrados próximos à papila ileo-cecal.*

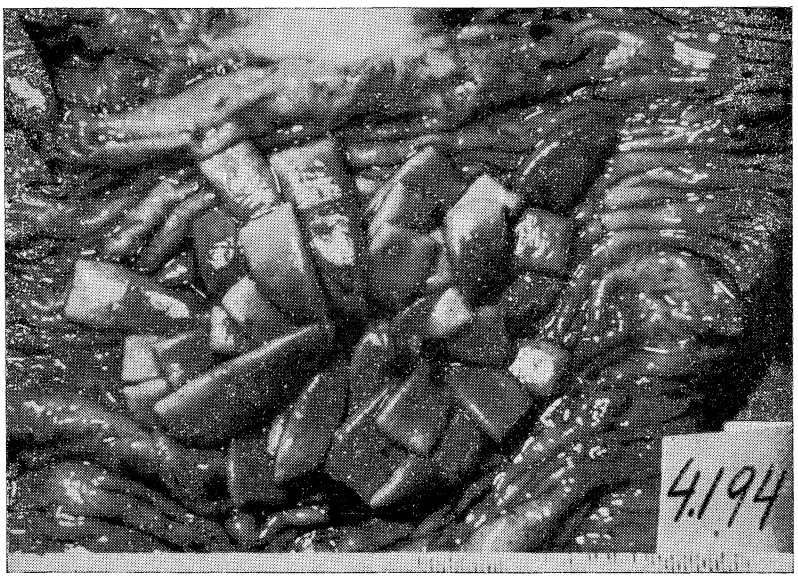


Fig. 6: *Um aglomerado de* Anoplocephala perfoliata *fixando-se num mesmo ponto na parede do ceco.*

Fig. 7: *Lesão nodular encontrada na parede entérica sob um aglomerado de parasitos.*

Fig. 8: *Úlcera da mucosa cecal sôbre a qual se encontravam grande número de* Anoplocephala perfoliata.

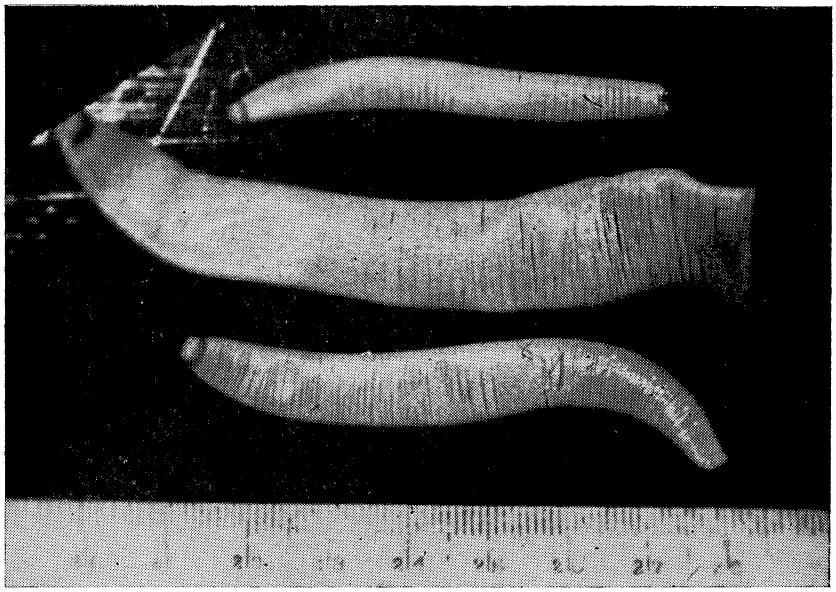


Fig. 9: *Exemplares de* Anoplocephala magna *encontrados em cavalo puro sangue de corrida, necropsiado na Escola Nacional de Veterinária.*

Fig. 10: Porção de intestino delgado mostrando espécimes de *Paranoplocephala mamillana.*

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 77-92
1961 — Min. Agricultura, Brasil

OCORRÊNCIA DE GLOBIDIUM NO INTESTINO DELGADO DE BOVINOS E OVINOS *

JÜRGEN DÖBEREINER ** e CARLOS HUBINGER TOKARNIA ***

I. INTRODUÇÃO

Com a denominação de globidiose define-se, segundo Henning [6], uma doença dos herbívoros causada por protozoários, que surge pela presença de cistos esféricos na pele ou em tecidos subcutâneos ou na mucosa do tubo digestivo. Se os tecidos cutâneo e subcutâneo estão comprometidos, podem ser observadas alterações como sejam anasarca, depilação, escleroderma, elefantíase, necrose e supuração; se o tubo digestivo é envolvido podem se verificar gastroenterite, mais ou menos grave, e diarréia, ou pode ocorrer que o parasito se encontra aqui num estado aparentemente não prejudicial à saúde do animal.

Sôbre esta definição de globidiose de Henning [6] devem ser feitas algumas considerações.

Como se pode deprender da literatura, a classificação do(s) agente(s) causador(es) das globidioses é ponto bastante confuso e ainda não resolvido. Por exemplo Hagan e Bruner [5] dizem, que os globídios são estreitamente relacionados com os sarcosporídios, tanto em aparência como provàvelmente zoològicamente. Acrescentam que porém alguns autores são mais inclinados a considerar os globídios como fungos do que protozoários, e que outros ainda acreditam que algumas das formas que ocorrem no epitélio intestinal, são estágios no ciclo evolutivo de coccídios.

Recentemente Pols [13] fêz uma exaustiva e excelente revisão bibliográfica sôbre o assunto. Segundo êste autor, Nöller [10], sem justificação concluiu que as estruturas císticas encontradas no intestino do bovino são idênticas com as formas cutâneas, e as incluiu sob o nome de *Globidium besnoiti* e êste critério tem sido adotado por diversos autores. Porém por estudos posteriores chegou-se à conclusão que os parasitos cutâneos e intestinais são espécies distintas, não relacionadas entre si. Assim Reichenow [15] se refere ao parasito cutâneo como *Besnoitia besnoiti* e ao parasito intestinal como *Eimeria* (*Globidium*) *bovis*. Êste autor define o subgênero *Globidium* pertencendo ao gênero *Eimeria* como incorporando os parasitos semelhantes a *Eimeria* situados no tecido epitelial do intestino, e diz que os estágios de desenvolvimento dêste parasito, especialmente os esquizontos e microgametocitos, adquirem um tamanho excepcionalmente grande, causando desta maneira uma hipertrofia acentuada da célula parasitada, e que os oocistos são extremamente grandes, de estrutura granular e com superfície rugosa. Reichenow [15] estava consciente de que esta definição não

---

* Entregue para publicação em 15 de maio de 1961.

** Da Seção de Anatomia Patológica do Instituto de Biologia Animal, Rio de Janeiro, e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

*** Veterinário e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

abrange todos os aspectos de tôdas as espécies que êle pretendeu incluir no subgênero *Globidium,* e por causa disto acentuou, que não há uma demarcação nítida entre *Globidium* e *Eimeria*. No caso de *E. bovis,* agamogenia é tìpicamente a de *Globidium,* enquanto gamogenia é a de *Eimeria*. Na sua classificação se refere a êste parasito, como vimos, como *Eimeria* (*Globidium*) *bovis*. Segundo Pellérdy [11], a definição de globídios continua confusa. Tudo que se sabe, é que pertencem aos globídios as eimérias com sòmente uma geração de esquizontos; que os esquizontos são estruturas visíveis a ôlho nu; que mais que 100 000 merozóitos se desenvolvem nêles; e que finalmente os locais da esquizogonia e gametogonia são usualmente bastante afastados entre si no tubo digestivo. Há uma abundância de aspectos distintos, e isto dá motivo à confusão na identificação, o resultado sendo que há quase nenhuma espécie de *Globidium* que apresente todos êstes aspectos. Por exemplo, em *Eimeria bovis* o processo de esquizogonia é o dos globídios, porém gametogonia e esporogonia não desviam do processo usual das eimérias. Uma outra causa de confusão, segundo êste autor [11], em definir o grupo *Globidium,* é provido pelo fato que os oocistos do *Globidium* primeiramente definido (*Globidium leuckarti*) eram grandes e a sua parede era espessa de coloração castanha escura. Alguns autores mostram tendência de incluir êste aspecto nos característicos dêste subgênero. Porém isto é òbviamente errado, porque nesta base um número de eimérias devia ser igualmente incluído nos globídios; cita várias espécies e diz que porém a maioria dos aspectos da evolução endógena destas espécies é conhecida agora e que está claro que não possuem os característicos de *Globidium*. Reichenow [14], referindo-se a globidiose intestinal do ovino, diz que no abomaso e intestino delgado de ovinos ocorrem estadios de desenvolvimento com localização epitelial, que por causa do seu tamanho excepcional já a ôlho nu são visíveis sob forma de pequenos pontinhos. Diz que estas formações designadas como *Globidium gilruthi* talvez pertencem a *Eimeria intricata,* mas que isto ainda deve ser estabelecido. Reichenow [15] provisòriamente inclui êste organismo no gênero *Eimeria,* na assumpção que os cistos no abomaso e intestino representem a fase esquizogônica, e que a fase gamogênica, que não tem sido determinada experimentalmente, provàvelmente se desenvolve na porção distal do intestino delgado. Êle sugere que *Eimeria intricata,* que possue um oocisto relativamente grande e de parede espessa, provàvelmente representa a fase esporogônica no ciclo evolutivo de *Globidium gilruthi*. E assim transferiu tentativamente êste protozoário para o gênero *Eimeria,* incluindo-o no subgênero *Globidium,* e o designou como *Eimeria* (*Globidium*) *gilruthi*.

No Brasil há uma única observação feita sôbre globidiose intestinal em animal doméstico, é de autoria de Dacorso Filho [1], que em 1942 relatou na Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária no Rio de Janeiro, o achado de cistos de *Globidium* em cortes histológicos da mucosa do intestino delgado de um bovino, procedente do Município de Carangola, Estado de Minas Gerais *. A ocorrência da forma cutânea de globidiose é ignorada no Brasil [12].

Devido à escassez de dados sôbre êste assunto em nosso meio, achamos interessante relatar casos de globidiose intestinal encontrados por nós.

---

* Tratava-se de um bezerro de que foram enviados ao Instituto de Biologia Animal, Rio de Janeiro, em 21-9-42, fragmentos do coração, pulmão, fígado, baço e intestino em formol a 10%, registrados na Seção de Anatomia Patológica sob o n.º 2975. Os exames histopatológicos revelaram edema dos septos pulmonares, pequenos focos de necrose no fígado, áreas de necrose com cariorexia no baço e enterite catarral com presença de raros cistos de *Globidium* na extremidade das vilosidades do intestino delgado.

II. MATERIAL E MÉTODOS — RESULTADOS

NOSSAS OBSERVAÇÕES

Descreveremos quatro casos em que encontramos formas de *Globidium* no intestino delgado, dois em bovinos e dois em ovinos, encontrados ocasionalmente durante diversos estudos.

Bovino n.º 560, macho, com aproximadamente 1 ano de idade, mestiço.

Durante os nossos estudos sôbre a ocorrência de coriza gangrenosa no Estado do Rio Grande do Norte [2], num dos bovinos (caso n.º 4, bovino n.º 560), que nos foi apresentado como afetado pela doença em questão, estabelecemos pelo histórico, o exame clínico, os achados de necrópsia e os exames histopatológicos, o diagnóstico de uremia. Procedia êste animal do Sítio Lagoa Batista, Município de Serra Negra do Norte. Não transcrevemos aqui todos os dados colhidos a respeito dêste animal, nem todos os achados de necrópsia e dos exames histopatológicos, por serem muito extensos e não terem qualquer relação com o parasito encontrado no intestino delgado. O que aqui interessa é o seguinte: O animal não apresentara quadro de diarréia, e à necrópsia o aparelho digestivo além de áreas limitadas levemente congestas na mucosa do intestino delgado e grosso, não teve alterações.

Por ocasião dos *exames histopatológicos* (material registrado na Seção de Anatomia Patológica sob os números 11 660 a 11 662), encontramos no intestino delgado várias formas com aparência de *Globidium.* Estas formas estão localizadas na própria da mucosa nas extremidades das vilosidades do intestino delgado, são esféricas e variam em tamanho de 26 a 126 micra. A maioria é envolvida por cápsula eosinófila homogênea mais ou menos espessa. Distribuído pela parte interna dêstes cistos se podem observar grânulos besófilos, em uns em maior, em outros em menor quantidade. Em um dêles parte dos grânulos está disposta em cadeias formando círculos esféricos. (Fig. 1).

Bovino n.º 817, macho, com aproximadamente 1 ano de idade, mestiço.

Êste bovino tinha sido utilizado nos estudos experimentais sôbre a intoxicação por *Cestrum laevigatum* Schlecht. em ruminantes [3], que realizamos na Fazenda Santa Helena, Município de Paraíba do Sul, Estado do Rio de Janeiro. O animal procedia do Município de Marquês de Valença, do mesmo Estado. Êstes experimentos consistiram na administração das partes aéreas da planta em estado verde, por via oral. O animal em questão recebeu a planta em 19-8-60, tendo morrido no dia seguinte após ter mostrado languidez e andar cambaleante. Por ocasião da necrópsia foram verificadas além de lesões no coração e na vesícula biliar, infestação verminótica gastro-intestinal, a presença de sangue coagulado no interior do intestino grosso e pequenas hemorragias na mucosa do ceco.

Por ocasião dos *exames histopatológicos* (reg. S.A.P. n.º 13 573) encontramos um único cisto de *Globidium* na mucosa do íleo, localizado na própria, na base das vilosidades. Êle tem forma esférica e mede 86 micra de diâmetro. Possui cápsula incompleta, não hialina, parecendo ser formada por tecido conjuntivo (fibrocitos) do hóspede. Há espalhados através do seu interior numerosos grânulos bosófilos. (Fig. 2).

Ovino n.º 425, fêmea, adulta.

Êste ovino tinha sido utilizado nos experimentos sôbre a toxidês de *Ipomoea fistulosa* Mart. em ruminantes, realizados na Fazenda Paraíso, Município de Parnaíba, Estado do Piauí [17]. Êstes estudos consistiram na administração durante períodos prolongados das partes aéreas da planta em estado verde, como alimentação exclusiva. O ovino em questão adoeceu no 35.º dia após o início do experimento, mostrando inicialmente falta de apetite para *I. fistulosa.* Quando se colocou a planta no comedouro, vinha, comia um pouco, e depois ficava como que pensativo com a cabeça em cima do comedouro. De dia para dia comia menos e por mais tempo ficava parado, morrendo no 43.º dia após o início do experimento, sem ter se notado

quaisquer sinais de diarréia. *Achados de necrópsia*: Na parede do intestino, principalmente do intestino grosso, muitos nódulos verminóticos de *Oesophagostomum sp.* Na mucosa da parte distal do intestino delgado pontilhado branco fino maciço. No intestino grosso infestação leve por nematódios. Mucosa da vesícula biliar com pontilhado verde, com tamanho de cabeça de alfinete, saliente.

Exames histopatológicos (reg. S.A.P. n.º 11 618): Fígado com hemosiderose discreta, células hepáticas tumefeitas com citoplasma granuloso, apresentando eosinofilia acentuada e cariopicnose centrolobular. Rim com vacuolização do epitélio dos túbulos uriníferos contornados, com presença de esferas homogêneas eosinófilas em alguns dêstes túbulos. Vesícula biliar com numerosas úlceras pequenas. Intestino delgado (única parte coletada do tubo digestivo) com presença de numerosos parasitos com aparência de *Globidium*. Êstes encontramos espalhados por tôda parte da própria da mucosa. Além dos grandes cistos de *Globidium* bem conhecidos, encontramos neste material diversas formas que podem ser interpretadas como estadios evolutivos descritos para o gênero *Eimeria*. Daremos a descrição de tôdas as formas por nós encontradas, com nossa interpretação.

Os cistos medem de 60 a 242 micra. Muitos têm uma cápsula eosinófila homogênea, em uns mais, em outros menos espessa. Às vêzes os cistos são envolvidos por fina camada de fibrocitos. Os cistos estão cheios de estruturas fusiformes, em alguns espalhadas desordenadamente, em outros algumas delas ou grande parte estão dispostas em cordões formando esferas, ou em outras palavras há formações esféricas com núcleos dispostos em sua periferia, ao redor dos quais podendo se perceber às vêzes substância eosinófila. No centro destas esferas vêem-se às vêzes esférulas basófilas. (Figs. 3 a 7). Êstes cistos podem ser interpretados como esquizontes ou microgametocitos, os que possuem esferas sendo formas imaturas. Há campos em que se vêem acúmulos das ditas estruturas fusiformes livres no estroma da própria, aparentemente oriundos de cistos que romperam recentemente. As estruturas fusiformes têm uma extremidade rombuda onde está localizado um núcleo basófilo, a outra extremidade sendo ponteaguda e eosinófila. (Fig. 9).

Veremos agora as formas pequenas encontradas por nós. Nas células epiteliais da mucosa encontramos formas redondas medindo aproximadamente 12 micra de diâmetro e formas ovais medindo aproximadamente 12 por 16 micra. Estas contêm um núcleo basófilo, granulações eosinófilas homogêneas refringentes ao redor dêste e na periferia uma cadeia simples de grânulos pequenos basófilos. (Figs. 10 e 12).

Dentro da luz de glândulas intestinais encontramos formas ovais medindo aproximadamente 12 por 16 micra, com cápsula delgada de contornos nítidos, com um núcleo redondo e o citoplasma levemente granular. Estas formas lembram muito a oocistos. (Fig. 13).

Nas células epiteliais encontramos ainda formas redondas ou ovais com as medidas das duas formas descritas antes, que contêm um núcleo basófilo, grânulos eosinófilos e cápsula delgada de contornos nítidos. (Figs. 14 a 16). Estas formas parecem ser estadios intermediários entre as duas descritas antes. Podem ser interpretadas como zigotos, e as formas epiteliais descritas acima devendo ser então macrogametos.

Dentro da luz de glândulas ou dentro de células epiteliais encontramos ainda outras formas. Estas são constituídas por aglomerados de grânulos basófilos. (Figs. 16 a 18). Pensamos que estas sejam estadios iniciais de evolução dos cistos grandes descritos inicialmente.

A mucosa do intestino não apresenta além de pequena destruição de células epiteliais e leve infiltração por linfócitos, lesões dignas de nota.

Ovino n.º 426, fêmea adulta.

Êste ovino tinha sido utilizado nos mesmos experimentos que o precedente. Amanheceu caído no 29.º dia após o início do experimento, não querendo comer a *I. fistulosa*. Separado e oferecendo-se a ela capim, comeu bem êste e se recuperou ràpidamente. A partir do 35.º dia após o início do experimento recebeu novamente *I. fistulosa*. No 50.º dia do experimento, isto foi em 30-4-57, apresentou diarréia. Em 2-5-57 as fezes eram líquidas, sanguinolentas e fétidas. Temperatura 39,7º. O exame microscópico revelou quantidade maciça de oocistos de *Eimeria sp.* nas fezes. Neste mesmo dia foi iniciado tratamento com sulfaguanidina, 2 g duas vêzes por dia. Em 3-5-57 continuou a diarréia sanguinolenta fétida. Em 4-5-57 temperatura 39,2º. Em 5-5-57 as fezes ainda eram um pouco líquidas, mas quase sem sangue. Continuamos sempre o tratamento com sulfaguanidina. Em 6-5-57 as fezes eram quase normais, porém o animal estava muio fraco e caiu de lado. Em 7-5-57 foi sacrificado em estado agônico. O animal tinha apresentado inicialmente diminuição de apetite, e a partir do dia 2-5-57 até o dia da morte anorexia. *Achados de necrópsia*: Coagulador com aproximadamente 20 exemplares de *Haemonchus sp.* Intestino delgado, principalmente em sua parte distal, com pontilhado branco fino. Ceco e colon sem hemorragias e com conteúdo quase normal, só no reto havendo pequena quantidade de sangue coagulado. Atrofia hidrópica da gordura epicárdica. No pulmão presença de áreas de contornos irregulares, medindo 0,5 a 3 cm de diâmetro, de coloração vermelha escura até amarela suja.

Exames histopatológicos (reg. S.A.P. n.º 11 619): Pulmão com áreas de broncopneumonia purulenta com abcedação. Baço com hemosiderose. Rim com degeneração vacuolar dos túbulos uriníferos contornados. Fígado com deposição de hemosiderina, principalmente nos espaços porta, e com granulação fina no citoplasma das células hepáticas. No intestino delgado (única parte coletada do tubo digestivo) presença de raros cistos de *Globidium,* medindo de 120 a 290 micra de diâmetro (Fig. 8), de algumas formas pequenas epiteliais (Fig. 11) e de alguns oocistos, formas estas com as mesmas características das descritas no caso anterior, o do ovino n.º 425. Também neste caso a mucosa intestinal não apresenta, além de pequena destruição de células epiteliais e leve infiltração por linfócitos, lesões dignas de nota.

III. COMENTÁRIOS

Pouco podemos dizer a respeito dos raros cistos de *Globidium* que encontramos nos dois bovinos. Foram achados ocasionais, feitos durante os exames histopatológicos dos diversos órgãos de animais que morreram de outra causa, não relacionada com a presença dos parasitos no intestino delgado.

Interessantes são os achados nos dois ovinos. A presença de *Globidium* no ovino tem sido assinalada na mucosa do abomaso e do intestino delgado [4, 5, 6, 8, 14, 15, 16]. Têm sido observadas enterites em ovinos, associadas com a presença de formas císticas de *Globidium* no tubo digestivo [7, 9]. Como porém ainda não é claro, se estas formas císticas pertencem a uma das espécies de *Eimeria* (*Globidium*) conhecidas como produtoras de enterite, como já vimos, não se pode precisar por enquanto a sua importância patogênica.

Um dos nossos dois ovinos (ovino n.º 426) pertenceu a um lote de 6 animais (ovinos n.ºs 419, 426, 430, 431, 432 e 433), quando nos primeiros dias de maio de 1957 cinco dêles adoeceram com uma diarréia sangüinolenta acentuada. Foi estabelecido o diagnóstico de eimeriose pelo exame microscópico das fezes, tendo-se encontrado em todos os casos quantidades muito grandes de oocistos de *Eimeria*. Todos os animais doentes foram tratados com sulfaguanidina. Apesar disto 4 ovinos morreram, 3 na fase aguda da doença (ovinos n.ºs 431, 432 e 433) e um na fase final da doença (ovino n.º 426). À necrópsia dos 3 ovinos que morreram na fase aguda da doença, foram encontradas lesões hemorrágicas acentuadas extensas na parede do ceco e do colon. À necrópsia do ovino n.º 426

já não foram observadas as lesões hemorrágicas do tubo digestivo. Neste animal foram encontradas as formas de *Globidium* na mucosa do intestino delgado. O nosso ovino n.º 425 pertencia ao mesmo lote, porém morreu por outra causa uns 10 dias antes do surto de eimeriose descrito acima, sem ter mostrado quaisquer sintomas de eimeriose.

Como devemos interpretar os nossos achados? Infelizmente não podemos discutir êste ponto o quanto desejável, pois por ocasião do exame das fezes durante a fase aguda da doença, os oocistos encontrados nos diversos ovinos não foram medidos e examinados cuidadosamente, nem foram efetuados outros estudos a seu respeito, e também por considerarmos o nosso material escasso. Porém achamos interessante chamar atenção especial para o fato que o ovino n.º 425, cujo intestino, como vimos, era muito rico em diversas formas, morreu por outra causa 10 dias antes do surto de eimeriose em nosso lote de ovinos. Também queremos assinalar, que nos cortes do ceco e cólon de dois ovinos, que morreram na fase aguda de eimeriose (ovinos n.ºs 432 e 433, mat. reg. S.A.P. n.ºs 11 625 e 11 626 a 11 627 respectivamente; ceco e cólon únicas partes do tubo digestivo coletadas), não encontramos formas grandes de *Globidium* (cistos). Encontramos lesões hemorrágicas e infiltrados grandes por polimorfonucleares, e formas da evolução gametogênica de *Eimeria*, isto é macrogametos (medindo 12 a 17 micra de diâmetro) e microgametocitos (medindo 13 a 19 micra de diâmetro), e oocistos (medindo 17 a 19 por 11 a 14 micra de diâmetro).

Os nossos dados não permitem concluir se as diversas formas por nós encontradas em nosso lote de ovinos pertencem a um só parasito ou a diversos.

IV. RESUMO

Os autores descrevem quatro casos, em que encontraram formas de *Globidium* no intestino delgado, dois em bovinos e dois em ovinos.

Nos dois bovinos encontraram raros exemplares do parasito, assim também em um ovino, enquanto no outro ovino eram numerosos.

Nos bovinos sòmente foram encontradas formas císticas grandes, nos ovinos, especialmente no último mencionado, além destas formas grandes foram encontradas ainda formas pequenas. Os autores fizeram uma descrição detalhada do aspecto microscópico de tôdas as formas observadas.

Os autores consideram o achado do parasito nos dois bovinos como ocasional. No que se refere a sua presença nos dois ovinos, não puderam concluir se êste está relacionado com um surto de doença diagnosticada como eimeriose, que na mesma época observaram no lote de ovinos a que pertenciam os dois animais.

V. AGRADECIMENTOS

Queremos aqui consignar os nossos agradecimentos ao Dr. W. O. Neitz, do Instituto de Onderstepoort, União da África do Sul, pela orientação dada ao presente estudo e ao Dr. Luís Antônio Tavares Silva, Engenheiro Agrônomo e fazendeiro estabelecido em Parnaíba, Piauí, pela colaboração prestada.

OCCURRENCE OF *GLOBIDIUM* IN THE SMALL INTESTINE OF BOVINES AND OVINES

Abstract

The authors describe four cases, in which they found forms of *Globidium* in the small intestine, two of them in bovines and two of them in ovines.

In the two bovines they found rare specimes of this parasite, and so in one ovine, but in the other ovine these were numerous.

In the bovines, only large cystic forms of the parasite were found. In the ovines, specially in the last mentioned, beside these large forms small ones were observed. The authors give a detailed description of the microscopic features of all the forms they saw.

The authors consider the finding of the parasite in the bovines as occasional. Regarding its presence in the two ovines, they could not conclude, if the forms of *Globidium*, they observed are related to an outbreak of a disease diagnosed as being eimeriosis, which at the same time they observed in the group of ovines, to which belong these two animals.

VI. REFERÊNCIAS

1) DACORSO FILHO, P.—Comunicação pessoal.

2) DÖBEREINER, J. & TOKARNIA, C.H. (1959).—Ocorrência de coriza gangrenosa dos bovinos no Município de Serra Negra do Norte, Rio Grande do Norte. *Arq. Inst. Biol. Animal, 2*: 65-82. Min. Agricultura, Brasil.

3) DÖBEREINER, J. & TOKARNIA, C.H.—*Trabalho ainda não publicado.*

4) FIEBIGER, J. (1947).—*Die Tierischen Parasiten der Haus- und Nutztiere, sowie des Menschen.* 4. Aufl. Urban & Schwarzenberg, Wien, pg. 86.

5) HAGAN, W.A. & BRUNER, D.W. (1951).—*The Infectious Diseases of Domestic Animals.* 2nd Edition. Comstock Publishing Company, Inc., Ithaca, New York, pgs. 624-625.

6) HENNING, M.W. (1956).—*Animal Diseases in South Africa.* 3rd Edition. Central News Agency Ltd., South Africa, pgs. 681-692.

7) MARSH, H. & TUNNICLIFF, E.A. (1941).—Enteritis in Sheep Caused by Infection with the Protozoan Parasite *Globidium gilruthi. Am. Jour. Vet. Res., 2* (3): 174-177.

8) MORGAN, B.B. & HAWKINS, P.A. (1949).—*Veterinary Protozoology.* Burgess Publishing Company, Minneapolis, Minnesota, pg. 58.

9) MOUSSU, G. & MAROTEL, G. (1902).—La coccidiose du mouton et son parasite. *Arch. Parasitol., 6*: 82-98. Cit. por POLS (13).

10) NÖLLER, W. (1920).—*Globidium (Gastrocystis, Besnoitia). Prowazek's Handbuch der Pathogenen Protozoen.* 2.Bd. Leipzig, pgs. 919-993. Cit. por POLS (13).

11) PELLÉRDY, L. (1960).—Intestinal Coccidiosis of the Coypu. II. The Endogenous Development of *Eimeria seideli* and the Present Status of the Group "Globidium". *Acta Vet. Hung., 10* (4): 389-399.

12) PINTO, C. (1933).—*Profilaxia das Doenças Infecciosas e Parasitárias dos Animais Domésticos no Brasil.* Min. Agricultura, Brasil, pgs. 191-192.

13) POLS, J.W. (1960).—Studies on Bovine Besnoitiosis with Special Reference to the Aetiology. *Onderstepoort J. Vet. Res., 28* (3): 265-356.

14) REICHENOW, E. (1946).—*Grundriss der Protozoologie.* 2.Aufl. Verl. J. A. Barth, Leipzig, pgs. 59-60.

15) REICHENOW, E. (1953).—*Lehrbuch der Protozoenkunde.* 6.Aufl. Gustav Fischer Verlag, Jena. Cit. por POLS (13).

16) RICHARDSON, U.F. & KENDALL, S.B. (1957).—*Veterinary Protozoology.* 2nd Edition. Oliver & Boyd, Edinburgh and London, pgs. 185-187.

17) TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J. & CANELLA, C.F.C. (1960).—Estudo experimental sôbre a toxidez do "canudo" (*Ipomoea fistulosa* Mart.) em ruminantes. *Arq. Inst. Biol. Animal, 3*: 59-71. Min. Agricultura, Brasil.

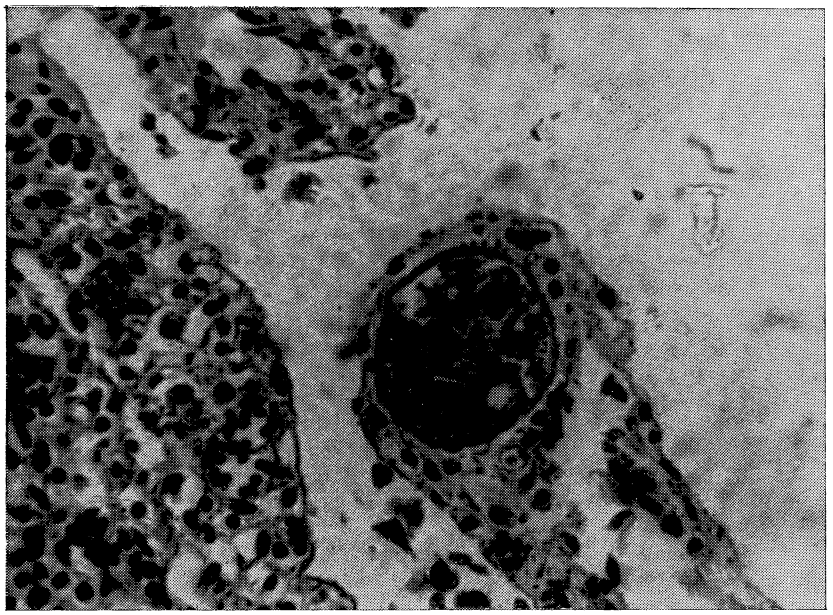


Fig. 1: *Cisto de* Globidium *na extremidade de vilosidade do intestino delgado. Bovino n.º 560. Hematoxilina férrica de Regaud. Obj. 45.*

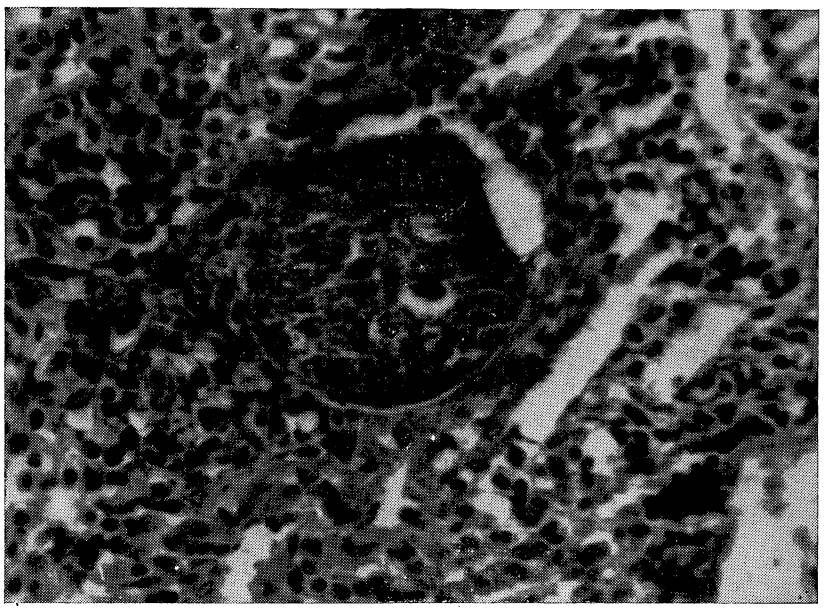


Fig. 2: *Cisto de* Globidium *na própria da mucosa do íleo. Bovino n.º 817. H.-E. Obj. 45.*

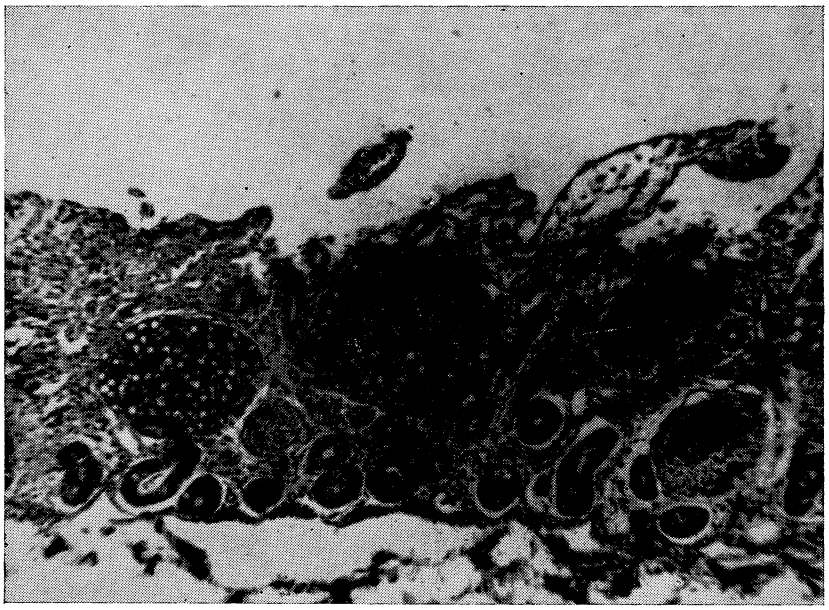


Fig. 3: *Várias formas de* Globidium *no intestino delgado. Ovino n.º 425. H.-E. Obj. 10.*

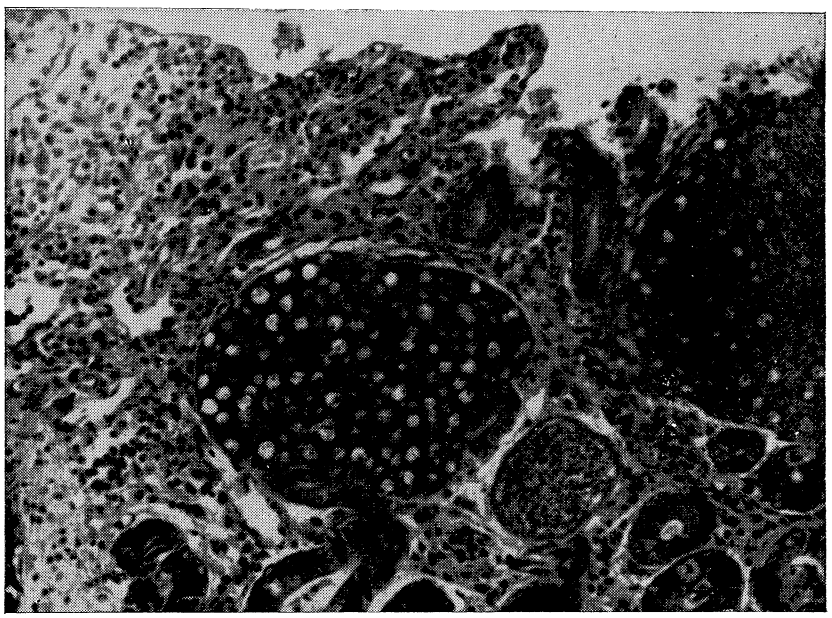


Fig. 4: *Aumento maior de campo mostrado na figura 3. H.-E. Obj. 20.*

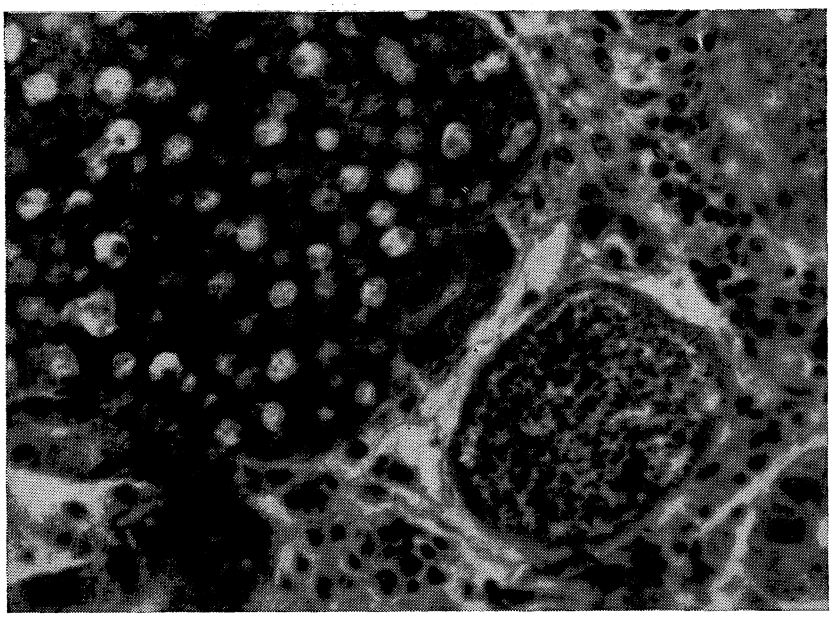


Fig. 5: *Detalhe de cistos de* Globidium *mostrados nas figuras 3 e 4. Note-se a cápsula hialina espessa do cisto menor, em cujo interior as estruturas fusiformes estão espalhadas desordenadamente. No outro cisto as estruturas fusiformes estão dispostas a formarem esferas. Ovino n.º 425. H.-E. Obj. 45.*

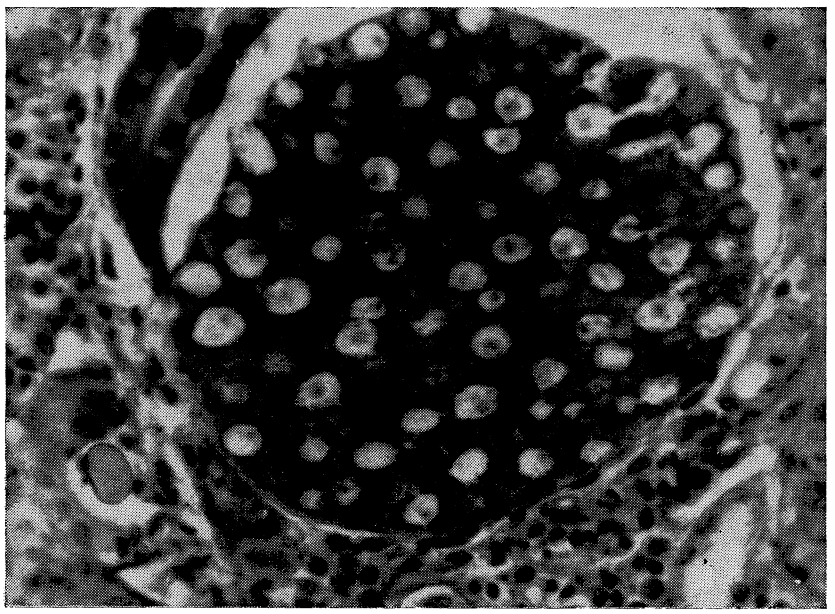


Fig. 6: *Cisto de* Globidium *com formações esféricas. Vê-se parte do cisto envolvido por fina camada de fibrocitos. Ovino n.º 425. H.-E. Obj. 45.*

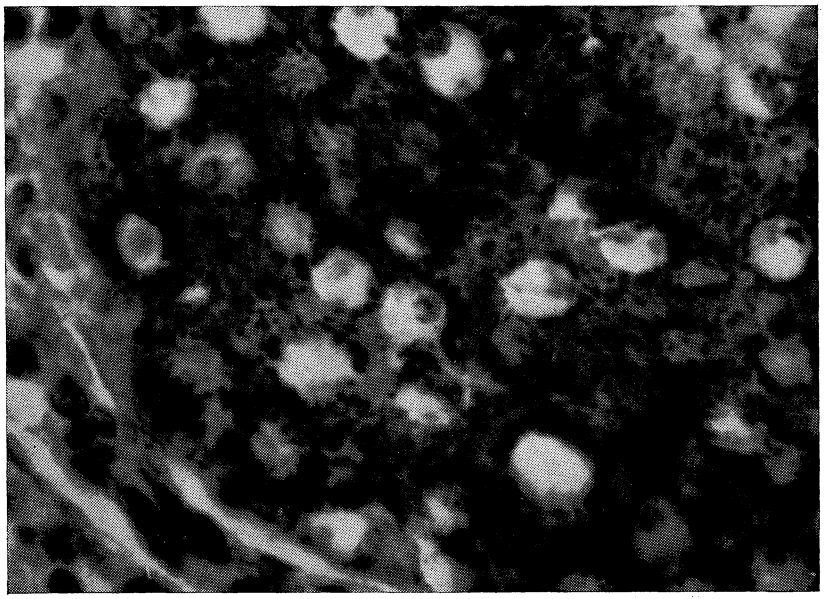


Fig. 7: *Detalhe de cisto de* Globidium *com as formações esféricas; podem-se ver os núcleos das estruturas fusiformes dispostos em sua periferia. No centro de algumas formações esféricas podem-se observar esférulas basófilas. Ovino n.º 425. H.-E. Obj. 100.*

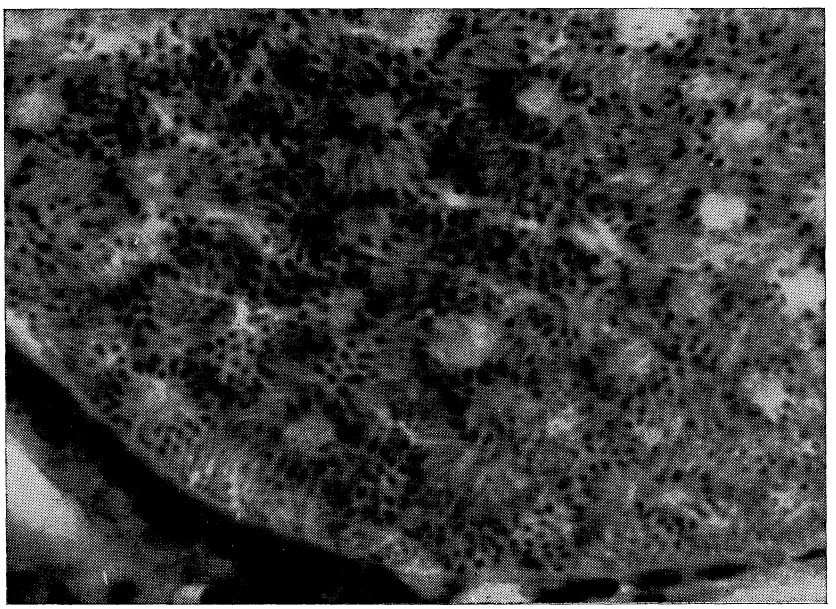


Fig. 8: *Detalhe de cisto de* Globidium *com as formações esféricas menos evidentes, em forma de rosetas, não havendo esférulas basófilas centrais. Ovino n.º 426. H.-E. Obj. 100.*

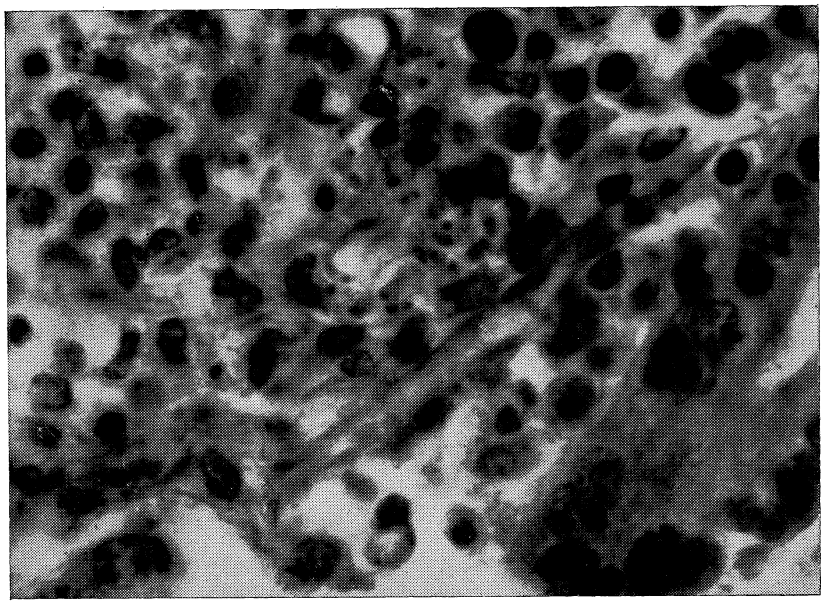


Fig. 9: *As estruturas fusiformes de cisto de* Globidium *livres no estroma da própria da muçosa do intestino delgado. Ovino n.º 425. H.-E. Obj. 100.*

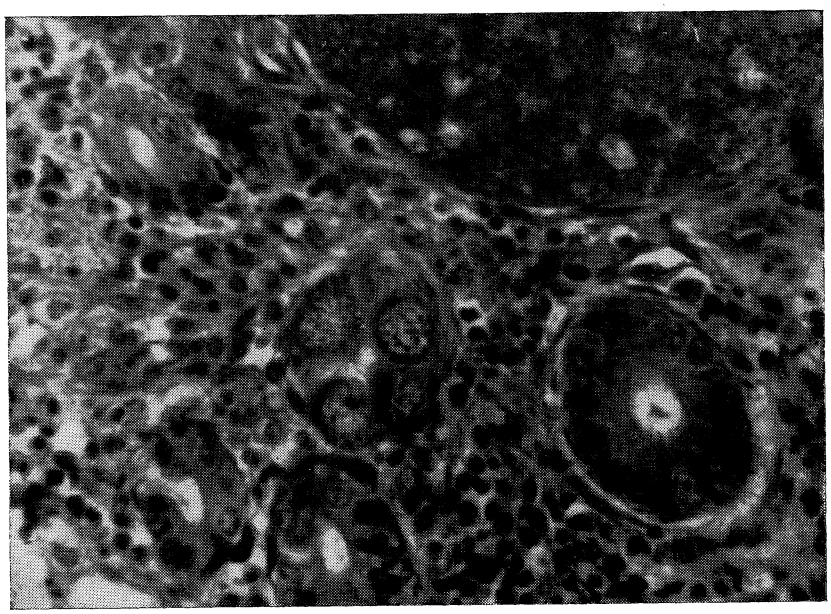


Fig. 10: *Ao lado de um cisto grande de* Globidium *formas pequenas em células epiteliais de glândulas intestinais. Ovino n.º 425. H.-E. Obj. 45.*

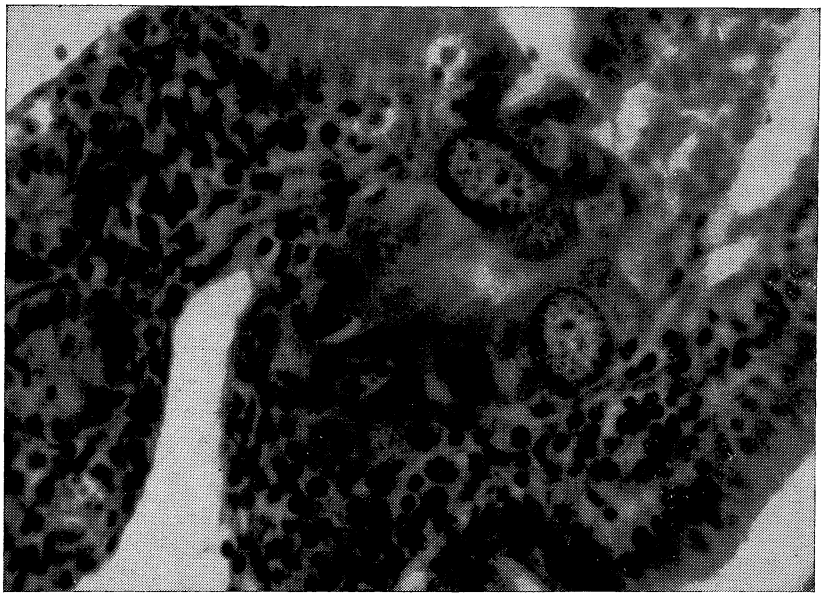


Fig. 11: *Outro campo com as mesmas formas epiteliais. Vêem-se as granulações eosinófilas refringentes no seu interior. Ovino n.º 426. H.-E. Obj. 45.*

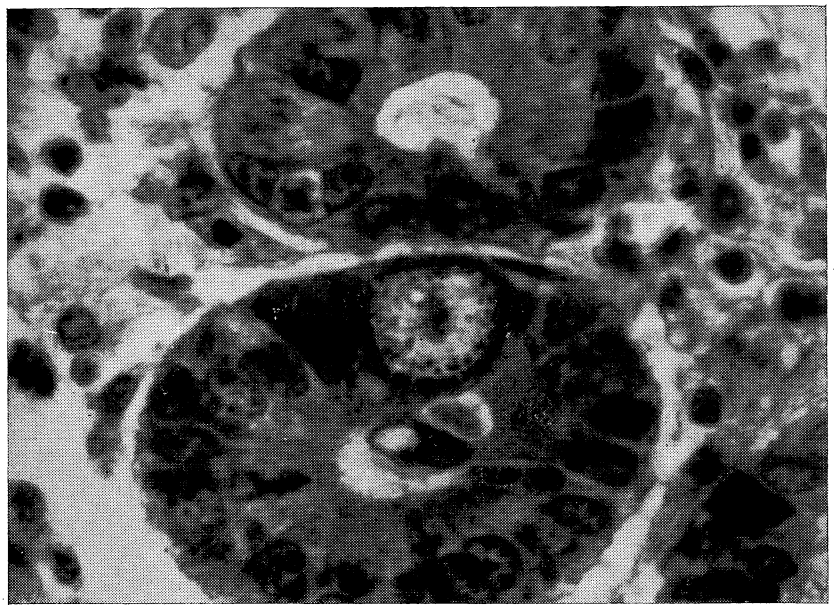


Fig. 12: *Maior aumento de forma epitelial. Vê-se em sua periferia uma cadeia simples de grânulos pequenos basófilos. Ovino n.º 425. H.-E. Obj. 100.*

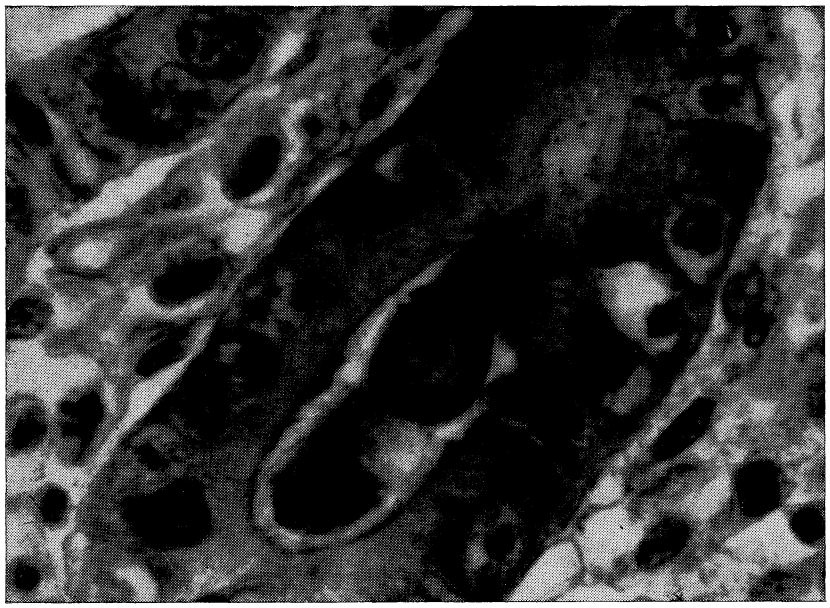


Fig. 13: *Forma dentro de luz glandular. Note-se a cápsula delgada de contornos nítidos. Ovino n.º 425. H.-E. Obj. 100.*

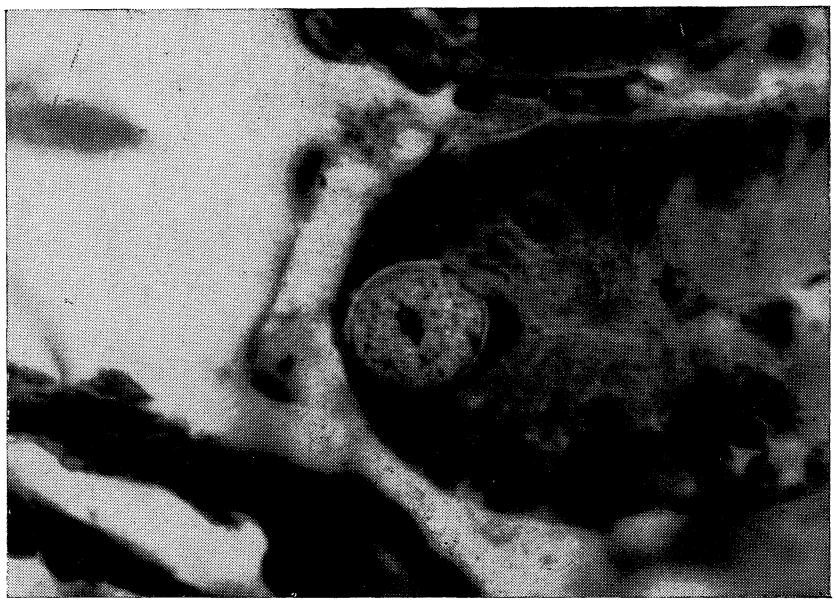


Fig. 14: *Forma semelhante da mostrada na figura 13, localizada dentro de célula epitelial. Ovino n.º 425. H.-E. Obj. 100.*

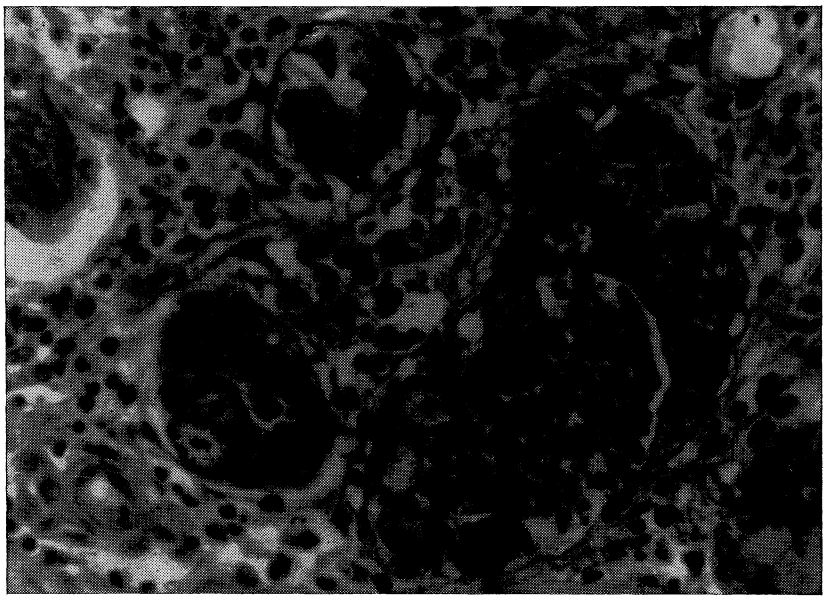


Fig. 15: *As mesmas formas mostradas nas figuras 10 a 14. Note-se a destruição de glândulas intestinais pela grande infestação neste ponto. Ovino n.º425. H.-E. Obj. 45.*

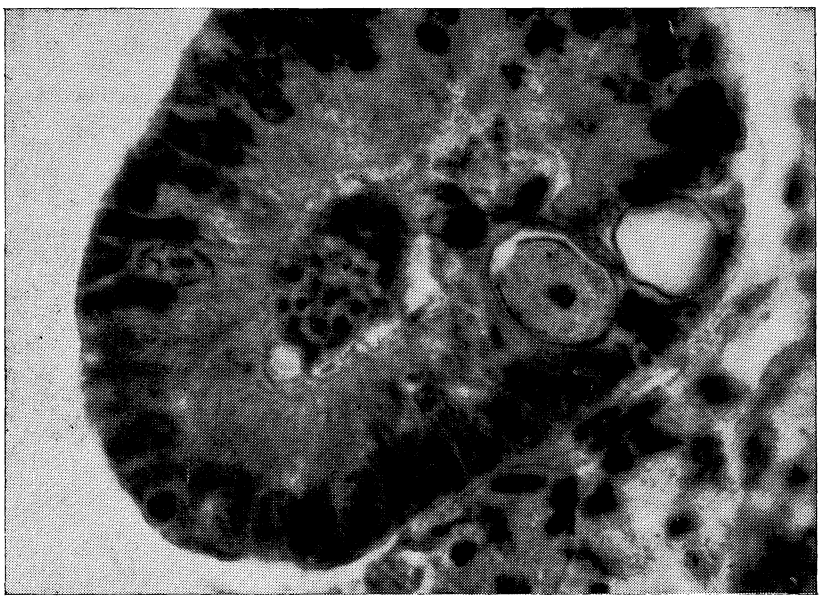


Fig. 16: *Além de forma epitelial mostrada na figura 14, dentro da luz glandular formação consistindo de aglomerados de grânulos basófilos. Ovino n.º 425. H.-E. Obj. 100.*

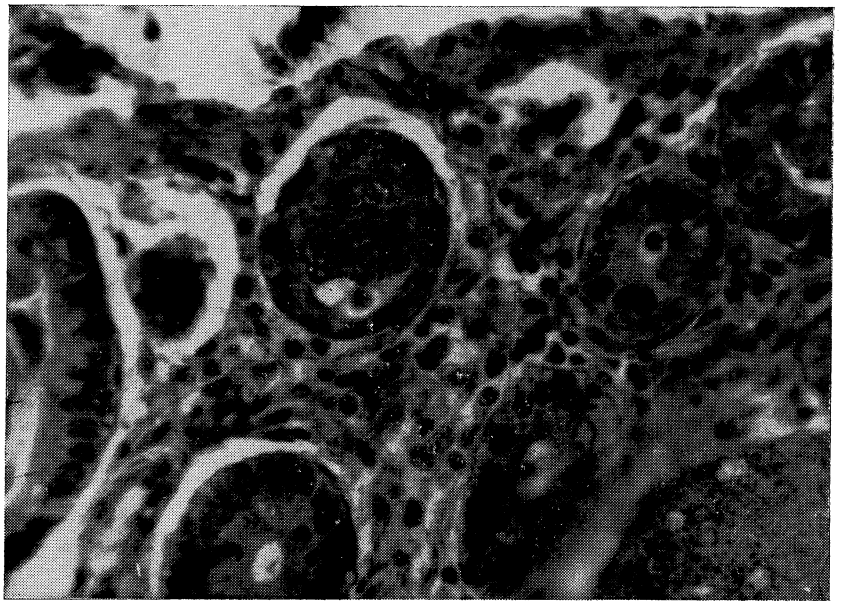


Fig. 17: *Aglomerado de grânulos basófilos dentro da luz glandular. Ovino n.º 425. H.-E. Obj. 45.*

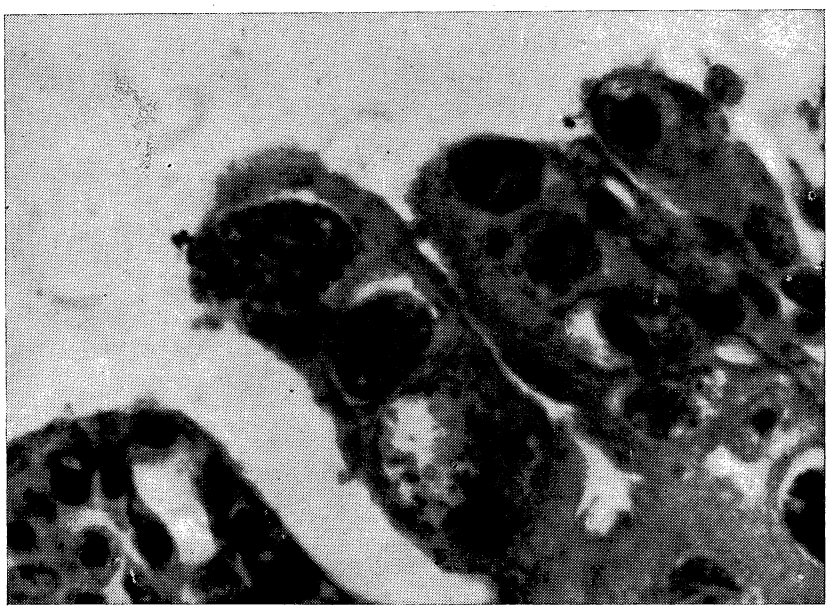


Fig. 18: *Os mesmos aglomerados dentro de células epiteliais de glândulas intestinais. Ovino n.º 425. H.-E. Obj. 100.*

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 93-98
1961 — Min. Agricultura, Brasil

EXPERIÊNCIAS COM VACINAS MONOVALENTES "A" CONTRA A FEBRE AFTOSA, OBTIDAS DA CULTURA DO VÍRUS PELO MÉTODO FRENKEL

MOACYR R. NILSSON e CARLOS DE MELLO BITTENCOURT FILHO

I. INTRODUÇÃO

Em 1951, Frenkel [1] iniciou a produção de vírus da febre aftosa, cultivando-o em epitélio normal de língua bovina, para a elaboração de vacina.

Essa nova técnica, que foi denominada "Método Frenkel", despertou logo grande interêsse em todo o mundo, principalmente na Europa, onde diversos pesquisadores iniciaram estudos para a obtenção desta nova fonte de vírus.

No México, em 1951, Mace e cols. [11] produziram vacinas com vírus de cultura, conseguindo bons resultados com sua aplicação.

Fogedby e Johnson [4], em 1952, elaboraram vacinas com diferentes horas de cultura, a fim de determinar a de melhor poder imunizante, concluindo ser a cultura de 60 horas a que melhor antígeno produziu.

Hendernson e Galloway [9], em 1953, fizeram comparações entre vacinas preparadas a partir de vírus obtido pelo método Frenkel e vacinas produzidas pelo método Waldmann, chegando à conclusão que o vírus cultivado é tão antigênico quanto o produzido pela inoculação em bovino.

Em 1953, Girard e Mackoviak [7] produziram vacinas em escala industrial, recomendando a técnica de Frenkel, principalmente pelo baixo custo de produção e ainda pela certeza de que o vírus assim obtido permanece sempre com as mesmas características, eliminando as freqüentes misturas que ocorrem nos matadouros.

Em 1955, Ubertini e cols. [15], trabalhando com vacinas produzidas a partir de vírus cultura e de vírus natural, concluíram pela superioridade do vírus natural, recomendando entretanto o uso do vírus cultura pelas suas vantagens econômicas.

Ainda em 1955, Ackermann e cols. [1] revelam resultados satisfatórios com a aplicação de vacina elaborada segundo o método Frenkel, mas em experiências de campo.

Willems e Leunen [16], em 1956, produziram vacinas de vírus cultura, com a particularidade de também cultivar como semente amostras de vírus natural obtidas a partir de vírus cultura.

Rivenson [13], em 1956, também efetuou estudos com vacina preparada a partir de vírus cultura.

Em nosso País, as primeiras tentativas para a produção de vacinas com o vírus cultivado pelo método Frenkel, foram efetuadas no Instituto de Biologia Animal, em 1955, não se podendo chegar a resultados conclusivos em virtude do pequeno número de animais utilizados, deixando entretanto bôas perspectivas.

Em 1956 foi elaborada uma vacina com vírus "A", em colaboração com o Centro Panamericano de Febre Aftosa, que apresentou resultados satisfatórios quanto à antigenicidade, porém sem aplicação prática por ter sido a dose utilizada de 55 ml.

Em 1957, nova tentativa foi efetuada com uma amostra de vírus "C", porém desta vez a vacina não forneceu os resultados esperados, sendo atribuída a falha ao fraco poder antigênico da amostra.

A presente comunicação refere-se a resultados obtidos com duas vacinas monovalentes "A", de cultura Frenkel, comparativamente a uma vacina monovalente "A", tipo Waldmann. A diferença entre as duas vacinas de cultura consistiu sòmente no tempo de incubação do vírus.

II. MATERIAL E MÉTODOS

O método de cultura do vírus foi no essencial o de Frenkel, sendo as culturas preparadas em frascos Ricard de 500 ml. A incubação à temperatura de 37°C teve a duração de 24 e 64 horas. Epitélio lingual de bovino: O epitélio procedeu do Frigorífico "Anglo", localizado em Mendes, Estado do Rio. Chegando ao laboratório, o epitélio era cortado e lavado em água fisiológica (salina) por dez vêzes, em seguida em solução tamponada de fosfatos (pH 7,6) contendo antibióticos (penicilina e estreptomicina) e finalmente colocado em meio Frenkel, deixando-se em geladeira a 4°C até o momento de sua utilização.

Meio: Em tôdas as culturas só usamos o meio de Frenkel (Baker modificado) com pH 7,6 , filtrado em Seitz E.K.

Vírus: Amostra do tipo "A", denominada A-São Paulo, fornecida pelo Centro Panamericano de Febre Aftosa com 56 passagens em cultura. Em nosso laboratório foi inoculada em bovinos sensíveis para a "reanimalização". Sofreu em seguida mais três passagens em cultura.

Constituição das culturas:

Meio Frenkel	75 ml
Epitélio fragmentado	12 g
Vírus diluído a 1/10	9 ml
Penicilina	50 000 unidades
Estreptomicina	50 mg
Vermelho Fenol	0,125 g/litro

Camundongos: suíços brancos, oriundos de nossa criação.

Bovinos: Mestiços, de 12 a 18 mêses de idade, pesando em média 120 quilos, provenientes de Marquês de Valença, Estado do Rio.

Titulação das culturas: O crescimento do vírus foi controlado pela inoculação em camundongos de 7 a 9 dias, segundo o método de Skinner [14], sendo o título calculado de acôrdo com Reed e Muench [12].

Tipificação: As culturas foram tipificadas pelo teste de fixação do complemento preconizado por Cunha e cols. [2].

III. RESULTADOS — CONCLUSÕES

Foram elaboradas vacinas com vírus de 24 e 64 horas de incubação. Calculou-se a quantidade de vírus de acôrdo com a técnica recomendada por Henderson [10], que é baseada no conteúdo de vírus por dose vacinante, constando a mesma de uma concentração de $10^{-6.8}$ DI_{50} para 50% de proteção e $10^{-7.3}$ DI_{50} para 80-90% de proteção. Foi empregado o hidróxido de alumínio para a adsorção das vacinas.

Para servir de comparação às vacinas de cultura foi utilizada uma vacina do tipo Waldmann, elaborada com esta finalidade.

Os bovinos utilizados na comprovação foram prèviamente selecionados pela prova de sôro-proteção em camundongos [3], assim como pesquisada pela mesma técnica a evolução da taxa de anticorpos aos 7, 14 e 24 dias após a vacinação. No quadro I estão descritos os resultados referentes às provas de sôro-proteção.

A vacinação foi realizada pela via subcutânea, nas doses de 3 e 10 ml, respectivamente para 50 e 80-90% de proteção, sendo os bovinos observados diàriamente até o dia da comprovação.

Aos 24 dias de vacinados foram todos os bovinos inoculados em 4 a 6 pontos pela via intra-dermo-lingual com 10 000 DI_{50} de uma amostra do vírus "A" (A-470) isolada de um foco de febre aftosa, no Município de Barra Mansa, Estado do Rio.

Durante a leitura, que se prolongou por 15 dias, não foram consideradas as lesões linguais. O quadro II sintetiza o teste da comprovação.

IV. DISCUSSÃO

De acôrdo com o quadro I podemos observar que:

1) Entre os bovinos que tiveram febre aftosa generalizada, nenhum apresentou diferença superior a 1 log entre a sangria anterior à vacinação e a realizada 24 dias após.

QUADRO I

Índices de proteção para o vírus "A" dos soros de animais vacinados e relação com a imunidade conferida após a infecção

Número do animal	Vacina	Dose	ÍNDICES DE PROTEÇÃO					Resultados da inoculação
			I	II	III	IV	V	
141	Frenkel	3 ml	≤0,3	≤0,5	≤0,1	0,8	≥0,5	Sem reação
142	Cultura de		≤0,3	≤0,5	0,6	1,2	≥0,9	» »
143	24 horas		≤0,3	0,7	0,6	0,8	≥0,5	» »
145			≤0,3	≤0,5	≤1,0	0,5	≥0,2	Generalização
147			≤0,8	0,7	1,1	1,5	≥0,7	Sem reação
148			≤0,8	1,0	0,5	0,3	0	Reação local
163	Frenkel	3 ml	0	≥4,0	≥3,0	≥3,3	≥3,3	Sem reação
164	Cultura de		0,4	≤0,5	1,5	1,8	1,4	Reação local
165	64 horas		0	≤0,5	0,5	0,3	0,3	Generalização
166			0	≤0,5	0,7	0,7	0,7	»
167			0,5	1,0	0,4	1,3	0,8	»
168			0	≤0,5	0	0,8	0,8	»
146	Frenkel	10 ml	1,4	1,7	1,3	1,2	0	Generalização
150	Cultura de		≤0,8	1,0	0,6	0,3	0	Reação local
151	24 horas		≤0,8	≤0,5	≥3,0	≥2,6	≥1,8	Sem reação
152			≤0,8	1,5	1,1	2,1	≥1,3	Reação local
154			≤0,8	1,4	2,1	1,7	≥0,9	» »
156			≤0,8	0,7	0,5	0,8	0	Sem reação
157			≤0,8	1,0	0,4	0,7	0	Reação local
158			≤0,8	2,4	1,4	2,1	≥1,3	» »
159			≤0,8	≤0,5	0	0,3	0	Generalização
161			0,5	≥3,3	≥3,0	≥3,3	≥2,8	Sem reação
153	Frenkel		1,0	2,0	2,0	1,4	0,4	Sem reação
160	Cultura de		1,0	≥4,0	≥3,0	≥3,3	≥2,3	» »
169	64 horas		0	1,5	≥3,6	2,3	2,3	» »
172			0	≤0,5	0,2	1,0	1,0	Reação local
173			0	1,0	1,2	1,7	1,7	Sem reação
174			0	≤0,5	≥3,5	≥3,3	≥3,3	Reação local
175			0	0,7	1,6	1,5	1,5	» »
177			0,5	≤0,1	1,6	1,5	1,0	» »
178			0,5	1,1	0,9	1,5	1,0	Sem reação
179			0,5	≤0,1	0,2	1,0	0,5	Reação local
181	Waldamann	5 ml	0	≥3,6	≥3,5	≥3,3	≥3,3	Sem reação
182			0	0,3	0,9	0,8	0,8	Generalização
183			0,4	0,3	0,5	1,3	0,9	Sem reação
184			0,5	1,3	1,3	1,3	0,8	Reação local
185			0	0,6	≤ 1,3	1,0	1,0	» »
186			0	0,1	≤ 0,3	0,8	0,8	Generalização

I — Sangria antes da vacinação.
II — Sangria 7 dias após a vacinação.
III — Sangria 14 dias após a vacinação.
IV — Sangria 24 dias após a vacinação.
V — Diferença entre I e IV.

2) Os que evidenciaram as maiores taxas de anticorpos encontram-se entre os animais que não tiveram nem reação local, com exceção do bovino n.º 174.

3) Alguns bovinos não apresentaram elevação da taxa de anticorpos e mostraram-se protegidos, inclusive o n.º 156 que nem reação local teve.

4) De um modo geral, verificamos que os animais protegidos mostraram um aumento de anticorpos.

Segundo nossos resultados, observamos que a prova de sôro-proteção tem um valor relativo, pois se todos os animais que evidenciaram sensível aumento de anticorpos se mostraram imunizados, alguns dos protegidos não revelaram aumento de anticorpos. Êste fato nos traz alguma insegurança na seleção prévia de animais a serem utilizados em provas de eficiência com vacinas contra a febre aftosa.

Com relação aos resultados do quadro II, verificamos:

QUADRO II

Resultados da comprovação

VACINA	Dose	Número de bovinos	Reação local	Sem reação	Generalização	% de proteção contra generalização
Frenkel	3 ml	6	2	4	1	83%
Cultura de 24 horas	10 ml	10	7	3	2	80%
Frenkel	3 ml	6	5	1	4	33%
Cultura de 64 horas	10 ml	10	5	5	0	100%
Waldmann	5 ml	6	4	2	2	66%
Testemunhas	—	6	6	0	6	—

1) As vacinas de cultura evidenciaram superioridade antigênica sôbre a vacina Waldmann tomada como comparação.

2) A vacina de cultura de 64 horas de incubação revelou-se superior à de 24 horas na dose de 10 ml, que foi estabelecida por nós para ser utilizada na prática, o que vem confirmar as observações de Fogedby e col.[4], Henderson[8], Ubertini e cols.[15] e Frenkel[6].

3) Apesar dos melhores resultados obtidos com a vacina de 64 horas (100%), achamos que na prática não é vantajosa a produção de antígeno com êste período de incubação, porque:

a) há maiores posibilidades de contaminação bacteriana;

b) há maior dispêndio de tempo;

c) há encarecimento do produto pelo consumo de energia, de "carbogeno", assim como pelo desgaste do material;

d) A vacina de 24 horas de incubação também forneceu uma boa proteção (80%), que, segundo Henderson, é perfeitamente satisfatória para aplicação no campo.

4) Na dose de 10 ml, calculada segundo Henderson para 80-90% de proteção, ambas as vacinas confirmaram o que era esperado. Entretanto, na dose de 3 ml, que deveria fornecer uma proteção em tôrno de 50%, a vacina de 24 horas apresentou um resultado acima do previsto, sendo mesmo paradoxal, em comparação com a dose de 10 ml da mesma vacina. Embora de difícil esclarecimento, êste fato poderia encontrar sua justificação no pequeno número de animais utilizados na dose de 3 ml.

V. RESUMO

Os AA. realizaram experiências com vacinas monovalentes "A" contra a febre aftosa, elaboradas pelo método Frenkel, com culturas de 24 a 64 horas de incubação.

A quantidade de vírus utilizada por dose vacinante, foi de $10^{-7,8}$ DI_{50} para a obtenção de 80-90% de proteção, de acôrdo com Henderson.

Os testes de eficiência das vacinas foram realizados pela pesquisa da taxa de anticorpos neutralisantes e pela inoculação de vírus em bovinos.

As duas vacinas usadas demonstraram boa antigenicidade, havendo ligeira superioridade da preparada a partir do vírus de cultura de 64 horas de incubação.

EXPERIMENTS WITH MONOVALENT TYPE "A" VACCINES AGAINST FOOT AND MOUTH DISEASE, OBTAINED FRON CULTURING THE VIRUS BY FRENKEL'S METHOD

Abstract

The authors performed experiments with monovalent type "A" vaccines against foot and mouth disease, made by Frenkel's method, by incubating the virus for 24 and 64 hours.

The quantity of virus used for each dose of vaccine, was $10^{-7.3}$ DI_{50} in order to obtain 80-90% protection; this is in accordance with Henderson's work.

The efficiency test of the vaccines were performed by titrating the neutralizing antibodies and by inocculating the virus into cattle.

Both vaccines used had good antigenicity. The one which was made from the virus incubated for 64 hours was slightly superior.

VI. AGRADECIMENTOS

Apresentamos os nossos agradecimentos ao Dr. Jayme Lins de Almeida, Diretor do Instituto de Biologia Animal, pela ajuda e assistência que nos proporcionou; ao Dr. Alberto Ferreira Faria pela realização dos testes de fixação do complemento e pelo auxílio prestado na leitura do teste de comprovação; ao Dr. Joaquim Monteiro de Carvalho pelo fornecimento da vacina do tipo Waldmann, que serviu como têrmo de comparação e ao Centro Panamericano de Febre Aftosa por nos ter cedido a amostra do vírus A-São Paulo.

VII. REFERÊNCIAS

1) Ackermann, L.F.; Blanc, R.A.; Lucas, G.C. & Del Pino, M.A. (1955).—Contribucion al cultivo del virus aftoso por el metodo de Frenkel. Gac. Vet., 17: 3-8.

2) Cunha, R.; Abreu Martins, I.; Carvalho J.M. & Passos, W. (1951.—Tipificação pela prova de fixação do complemento de amostras de virus da febre aftosa coletadas no Brasil. Bol. Soc. Bras. Med. Vet., 19: 91-102.

3) Cunha, R.G.; Batista Jr., J.A.; Serrão, U.M. & Torturella, I. (1957).—El uso de los ratones lactantes en la evaluacion de los anticuerpos contra el virus de la fiebre aftosa y su significacion inmunologica. Gac. Vet. 19: 3-27.

4) Fogedby, E. & Johnson, M.L. (1952).—Expériences faites avec la méthode de Frenkel. Bull. Off. Inter. Epiz., 37: 473.

5) Frenkel, H.S. (1951).—Research on foot-and-mouth disease. III. The cultivation of the virus on a practical scale in explantations of bovine tongue epithelium. Am. J. Vet. Res., 12: 187-190.

6) Frenkel, H.S. & Ribelin, W.E. (1956).—Cultivation of Foot-and-Mouth disease virus in explanted epithelium of the bovine tongue. IX. Growth characteristics of the virus in large scale tissue culture. Am. J. Vet. Res., 17: 40.

7) GIRARD, H. & MACKOWIAK, C. (1953).—La culture du virus aphteux au state industriel. Rev. Immun., 17: 224.

8) HENDERSON, W.M. (1953).—The use of irus culture in foot-and-mouth disease research. Proc. XVth Int. Vet. Congr., Part. 1, Vol. 1: 191.

9) HENDERSON, W.M. & GALLOWAY, I.A. (1953).—The use of culture virus in the preparation of foot-and-mouth vaccine. J. Hyg., 51: 546-558.

10) HENDERSON, W.M. (1958).—Comunicação pessoal.

11) MACE, D.L.; DUNNE, H.W.; EICHORN, E.A. & CAMARGO, F. (1951).—In vitro cultivation of the Mexican strain (Vallée "A" type) of Foot-and-mouth disease virus. J. Inf. Dis., 88: 212-223.

12) REED L.J. & MUENCH, R. (1938).—A simple method of estimating 50 per cent end points. Am. J. Hyg., 27: 493-497.

13) RIVENSON, S. (1956).—Cultivo del virus aftoso por la tecnica de Frenkel y su utilizacion en la produccion de vacunas. Rev. Med. Veterinaria, B. Aires, 38: 97-110.

14) SKINNER, H.H. (1951).—Propagation of strains of foot-mouth disease virus in unweaned white mice. Proc. Royal Society of Med., 44: 1041-1044.

15) UBERTINI, B.; NARDELLI, L.; BAREI, S. & SANTERO, G. (1955).—Observations et études sur le virus de la fièvre aphteuse cultivé "in vitro" suivant la méthode de Frenkel. Bull. Off. Inter. Epiz., 43: 559-574.

16) WILLEMS, R. & LEUNEN, J. (1956).—Application de la méthode de culture du virus aphteux selon H. Frenkel. Résultats obtenus au laboratoire de Recherches véterinaires de l'État, Uccles Bruxelles. Bull. Off. Inter. Epiz., 45: 298-308.

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 99-104
1961 — Min. Agricultura, Brasil

NOVOS FOCOS DA DOENÇA DE AUJESZKY NO ESTADO DE MINAS GERAIS

I. ESTUDO DO FOCO NO MUNICÍPIO DE ALMENARA *

RENATO AUGUSTO DA SILVA ** e NESTOR GIÓVINE ***

I. INTRODUÇÃO

A Doença de Aujeszky foi descrita no Estado de Minas Gerais primeiramente por Alves de Souza [1] em 1922, ao estudar um surto em bovinos, sendo isolado o virus do cérebro de um bezerro de mais ou menos 20 dias de idade. Posteriormente, Patto [14], em 1931, isolou o vírus de um material nervoso de bovino procedente da cidade de Varginha. Gióvine e Machado [11], em 1940, isolaram 6 amostras de virus dos Municípios de Viçosa e Herval. Carneiro [7, 8], em 1949 e em 1950, isolou virus de material nervoso de bovinos, procedentes de Sacramento e Arceburgo.

Nos outros Estados, a enfermidade de Aujeszky tem sido descrita por vários pesquizadores. Assim, Carini e Maciel [5], em 1912, identificaram a doença pela primeira vez no Brasil, isolando o vírus do bulbo de uma vaca, do Município de Araras no Estado de São Paulo. Carneiro [8], no período de 1935 e 1950 isolou 40 amostras de vírus, sendo 37 amostras do Estado de São Paulo, uma amostra de Lages, no Estado de Santa Catarina e 2 do Estado de Minas Gerais. 38 amostras eram provenientes de bovinos, 1 de carneiro e 1 de leitão. Braga [4] em 1946, isolou uma amostra de vírus de cão, proveniente do Estado do Rio e Cunha [9], em 1948, do mesmo Estado, isolou o vírus do cérebro de uma vaca. Bauer [3], em 1955, relata o isolamento do vírus do cérebro de uma vaca proveniente do Município de Guaporé, no Estado do Rio Grande do Sul. Recentemente, Silva e Döbereiner [10], descreveram um fóco da doença no Município de Sapucaia, Estado do Rio de Janeiro, com isolamento de vírus do cérebro e da medula de uma vaca e Bauer [2], em 1960, relatou mais um isolamento de vírus, de material nervoso de bovino, proveniente do Município de Erichim, no Estado do Rio Grande do Sul.

A enfermidade de Aujeszky, ocorre naturalmente nos bovinos, ovinos, cães, gatos, ratos e suinos. Em cavalos a doença tem sido diagnosticada clìnicamente mas sem a confirmação do laboratório. Em suinos jovens é altamente mortal [12].

A doença de Aujeszky foi também descrita em animais silvestres sob a forma epizoótica por Balas e Hutyra [14], em ratas e Ratz [14], encontrou enfermas uma raposa, um "tejon" (mamífero carnívoro) e alguns javalis. Recentemente, esta enfermidade foi observada por Lyubashenko e cols. [13], em uma fazenda de criação de animais para a produção de péles, em Leningrado, onde 496 doninhas, 20 raposas do ártico e 24 raposas silvestres morreram, representando 60

* Entregue para publicação em 22 de fevereiro de 1961.
** Da Seção de Zoonoses por Vírus, do Instituto de Biologia Animal, Rio de Janeiro.
*** Professor. Seção de Nutrição Animal do Instituto de Tecnologia Industrial, Estado de Minas Gerais.

a 80% dos animais novos, havendo recidiva um ano depois na mesma fazenda e as perdas foram de 110,36 e 35 de cada espécie respectivamente. Foram também, observados focos em duas outras fazendas de péles, sendo o sintoma mais frequente o edema pulmonar. Prurido e perda da péle próximo a cabeça e focinho foram observados em algumas raposas afetadas mas não em todas as doninnas. A fonte de infecção foi a carne infectada.

A moléstia de Aujeszky, foi assinalada na Europa, Ásia e África e na América até o ano de 1950, tinha sido descrita sómente no Brasil e Estados Unidos da América [8]. Entretanto, Divo e cols. [10], em 1951, identificaram a doença em cães, na cidade de Caracas, na Venezuela, fazendo isolamento do vírus e estabelecendo a presença da doença em suinos por prova sorológica.

II. MATERIAL E MÉTODOS

HISTÓRICO DO MATERIAL

O material que deu origem ao presente trabalho chegou a êste Instituto, em 28-7-1960, remetido por um dos autores (N.G.) e tratava-se de fragmentos de cérebro de uma vaca conservados em glicerina pura e em formol a 10% que haviam sido coletados em uma fazenda localizada no Município de Almenara.

O rebanho desta fazenda, foi calculado em 243 vacas e 4 garrotes, da raça Zebú, que achavam-se em uma manga arrendada em outra fazenda, no Município de Rubim. Êstes animais viajaram cêrca de 60 Km para chegarem a Fazenda, no Município de Almenara.

De acôrdo com as observações do Sr. Alberto Vicente Pereira, Diretor Técnico do Departamento Agro Pecuário da Associação Rural de Almenara, ocorre todos os anos morte de bovinos com sintomas que indicam tratar-se da Doença de Aujesky, nos Municípios de Rubim, Jordânia, Jacinto e Rio do Prado. Nêstes Municípios, estão localizados os maiores rebanhos de suinos da região do vale do Rio Jequitinhonha.

A doença de Aujeszky no Município de Almenara e em outros Municípios visinhos, como o de Rubim, Jacinto, assume caráter de verdadeira epizootia. Todos os anos na época da sêca, que compreende o período do mês de junho ao mês de janeiro, adoecem e morrem bovinos com sintomas da Peste de Coçar. Tal enfermidade deve ocorrer em outros Municípios do Estado ,como também, nos Municípios de Salto da Divisa, Itabuna, Itapetinga, já no Estado da Bahia, se levarmos em consideração as informações dos fazendeiros destas regiões.

O rebanho, constituido de 243 vacas e 4 garrotes, foi reunido no curral da fazenda ,ainda no Município de Rubim, ficando 2 dias em íntimo contácto com suinos de todas as idades. Dêste Município para o Município de Almenara, os animais viajaram cêrca de 60 quilômetros e em um período de 10 dias, já no Município de Almenara, morreram 96 vacas e 1 garrote, com os seguintes sintomas: prurido intenso na região do úbere, dos flancos, do costado e do pescoço; andar incoordenado; mioclonias, principalmente nos músculos da região glútea e dos maxilares.

Esquematizando o nosso trabalho, duas etapas foram realizadas. A primeira, consistiu no isolamento de vírus e a segunda, no exame histo-patológico, que foi realizado pelo Dr. Jefferson Andrade dos Santos, chefe da Seção de Anatomia Patológica do Instituto de Biologia Animal.

ISOLAMENTO DE VÍRUS

Para o isolamento do vírus, utilizamos fragmentos de cérebro do animal que havia morrido com sintomas nervosos e prurido na região posterior do corpo.

Êstes fragmentos foram pesados, preparando-se a suspensão contendo 10% de substância nervosa em sôro fisiológico estéril a 8,5 por ml.

A seguir, esta suspensão foi centrifugada durante 15 minutos a 2.000 r.p.m. O sobrenadante obtido foi inoculado em quatro cobaios, pela via intra-muscular, conforme recomenda Carneiro [6]. Em data posterior, foi preparada nova suspensão a 10% de tecido cerebral, o qual havia permanecido em temperatura de — 20°C, para inoculações sub-cutâneas no coelho.

III. RESULTADOS

ISOLAMENTO DO VÍRUS

Pela leitura do quadro I, verifica-se que o cobaio não mostrou sensibilidade à amostra isolada. No período de observação de 21 dias, apenas um cobaio morreu sem mostrar prurido no ponto de inoculação e os outros sintomas tão bem descritos por Carneiro [6], para esta espécie. Por motivos alheios a nossa vontade, o cérebro e a medula dêste cobaio, não puderam ser inoculados em outro grupo de cobaios, pois o cadaver havia sido incinerado.

O quadro II, expressa o resultado das inoculações em coelhos. Verifica-se que o coelho apresentou-se bastante sensivel e a inoculação sub-cutânea com 1 ml em cada lado da região escapular, reproduziu em 3 ou 4 dias de incubação, os sintomas descritos para a Doença de Aujeszky, os quais se caracterizam pelo intenso prurido nas regiões correspondentes aos pontos de inoculação, chegando até a completa dilaceração dos tecidos destas regiões; perturbações nervosas e finalmente, morte dentro de poucas horas.

QUADRO I

Inoculação em Cobaios

MATERIAL	Animal	Dose	Via	Data da Inoculação	Resultado
Cérebro	Cobaio n.° 95	1 ml.	I. Musc.	28-7-60	28-8-60—Normal
Cérebro	Cobaio n.° 96	1 ml.	I. Musc.	28-7-60	28-8-60—Normal
Cérebro	Cobaio n.° 97	1 ml.	I. Musc.	28-7-60	11-8-60—Morto
Cérebro	Cobaio n.° 98	1 ml.	I. Musc.	28-7-60	28-8-60—Normal

QUADRO II

Inoculação em Coelhos

MATERIAL	Animal	Dose	Via	Data da Inoculação	Resultado
Cérebro	Coelho n.° 793	2 ml.	Sub. Cut.	9-8-60	13-8-60—Amanhece com forte prurido. As 14 horas morre.
Cérebro	Coelho n.° 794	2 ml.	Sub. Cut.	9-8-60	12-8-60—Amanhece com forte prurido, morrendo as 17,30 horas.

EXAME HISTO-PATOLÓGICO

O exame histo-patológico do cérebro registrado na Seção de Anatomia Patológica, sob o número 13.487, usando-se a coloração pela Hematoxilina-eosina, revelou lesões de leuco e pólio encefalites não purulentas com predominância nos infiltrados perivasculares de células linfocitárias (micro-fotografias 1 e 2, respectivamente).

IV. RESUMO

Os autores, estudando um foco da Doença de Aujeszky em uma Fazenda localizada no Município de Almenara, Estado de Minas Gerais, cujo grau de letalidade foi de 39,4%, isolaram o vírus do cérebro de um bovino, por inoculações sub-cutâneas em coelhos. Ainda, são relatados o histórico do material e as alterações histopatológicas do cérebro, observadas pelo Dr. Jefferson Andrade dos Santos.

V. AGRADECIMENTOS

Consignamos ao Dr. Jefferson Andrade dos Santos os nossos agradecimentos pela realização do estudo histopatológico do cérebro e ao Snr. Alberto Vicente Pereira, pela colaboração prestada na coleta do material e nos informes sôbre a ocorrência da doença nos Municípios de Almenara, Rubim, Jordânia, Jacinto e Rio do Prado.

NEW OUTBREAKS OF AUJESZKY'S DISEASE IN THE STATE OF MINAS GERAIS
I. STUDY OF AN OUTBREAK IN THE MUNICIPIO OF ALMENARA

Abstract

In this paper the authors describe the study of an outbreak of Aujeszky's disease in cattle in the Município of Almenara (State of Minas Gerais). The degree of mortality caused by disease in the farm was 39,4%. The Aujeszky's vírus was isolated from the brain of a cow by sub-cutaneous inoculation into rabbits. The histopathological findings from brain are also related.

VI. REFERÊNCIAS

1) ALVES DE SOUZA, M. (1922).—A Peste de Coçar em Minas Gerais. *Anais do I Congresso Nacional de Veterinária*: 52-55. Rio de Janeiro.

2) BAUER, A.G. (1955).—Primeira constatação do Mal de Aujeszky no Rio Grande do Sul. *Arq. do Inst. Pesq. Vet. Desidério Finamor, 1*: 15-16. Rio Grande do Sul.

3) BAUER, A.G. (1960).—Mal de Aujeszky em bovino. *Boletim mensal dos trabalhos relatados pelos técnicos do Inst. Pesq. Vet. Desidério Finamor,* n.º 4. Resumo 15, ata 535. Rio Grande do Sul.

4) BRAGA, A. (1946).—Conceitos experimentais e imunológicos sôbre a doença de Aujeszky. *Tése para concurso da Escola Nacional de Veterinária,* Rio de Janeiro, 99 pgs.

5) CARINI, A. & MACIEL, J. (1912).—La pseudo-rage ou paralisie bulbaire infectieuse au Brésil. *Bull. Soc. Path. Exotique, 5*: 576-578. Paris.

6) CARNEIRO, V. (1940).—A cobaia no estudo experimental da Doença de Aujeszky. *Arq. Inst. Biológico, 11*: 98-106. São Paulo.

7) CARNEIRO, V. (1949).—Estudo sôbre a Doença de Aujeszky no Brasil. *Arq. Inst. Biológico, 19*: 153-174. São Paulo.

8) CARNEIRO, V. (1950).—Distribuição geográfica e freqüência da Doença de Aujeszky no Brasil. *O. Biológico, 16*(3): 49-58. São Paulo.

9) CUNHA, R.G.—*Comunicação pessoal.*

10) DIVO, A.; GOLDMAN, C. & LUGO, A. (1951).—La enfermedad de Aujeszky (Pseudorrabia) en Venezuela. *Bol. Inst. Investigaciones Vet. Caracas, 4*: 599-616

11) GIÓVINE, N. & MACHADO, A. (1940).—Doença de Aujeszky. *Rev. Ceres, 1*: 366-397. Minas Gerais.

12) HAGAN, W.A. & BRUNER, D.W. (1957).—*The Infectious Diseases of Domestic Animals*. 3rd Edition. Ithaca, N.Y., pg. 275.

13) LYUBASHENKO, S.Y.; TYUL'PANOVA, A.I. & GRISHIN, V.M. (1958).—Aujeszky's disease in mink, artic fox and silver fox. *Veterinariya, 35*(8): 37-41. Moscow. (Resumo em *Vet. Bull.*, 1959/1386).

14) MANNINGER, R. (1947).—*Patologia y Terapeutica Especiales de los Animales Domesticos. I. Enfermedades Infecciosas*. Octava edicion. Editorial Labor.

15) PATTO, O. (1933).—Actualização dos estudos da raiva e da pseudo-raiva bovina. *Annaes Inst. Biotherápico, 1*: 3-37. Bello Horizonte.

16) SILVA, R.A. & DÖBEREINER, J. (1960).—Nota sôbre a Doença de Aujeszky no Município de Sapucaia, Estado do Rio de Janeiro. *Arq. Inst. Biol. Animal, 3*: 83-90. Min. Agricultura Brasil.

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 99-104
1961 — Min. Agricultura, Brasil

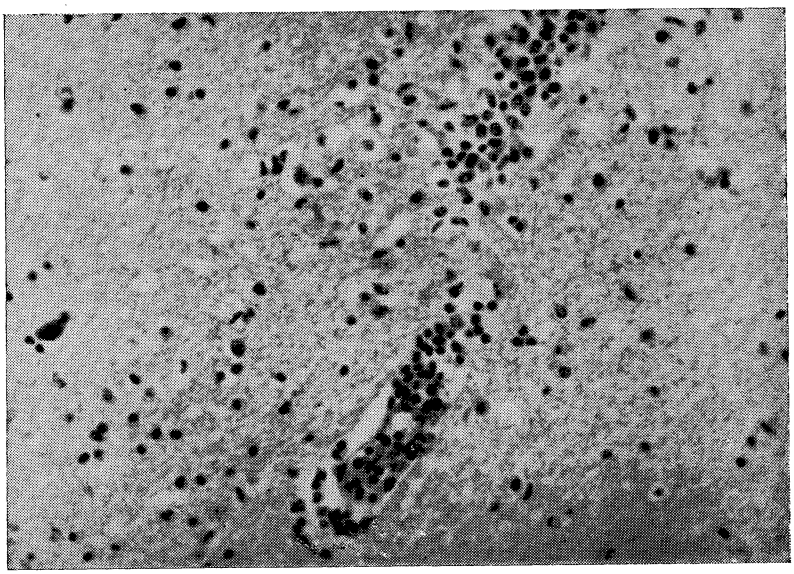


Fig. 1: *Cérebro. Corte da substância branca percebendo-se na parte superior reação inflamatória não relacionada com vaso e na parte inferior, infiltrado perivascular. H.-E. Obj. 25.*

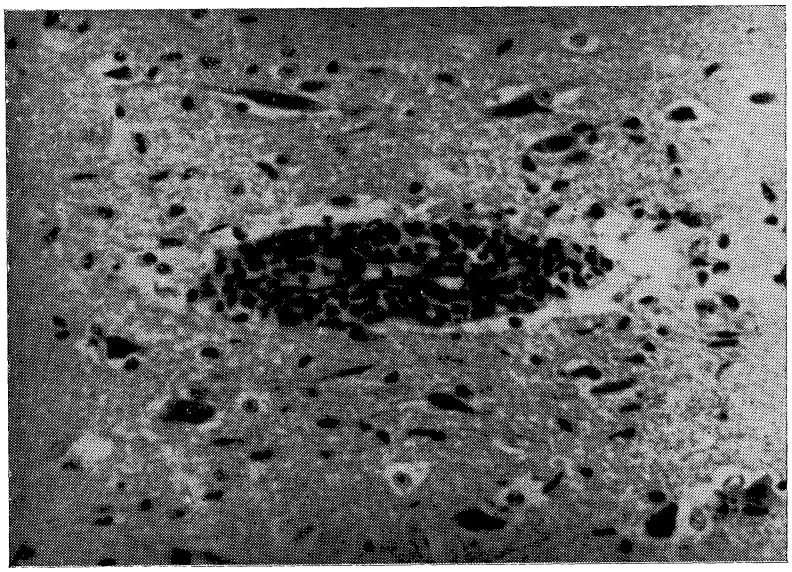


Fig. 2: *Cérebro. Corte da substância cinzenta percebendo-se o infiltrado inflamatório na parede e ao redor de arteríola. H.-E. Obj. 25.*

Arq. Inst. Biol. Animal 4: 105-108
1961 — Min. Agricultura, Brasil

O DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DE NEWCASTLE PELO TESTE DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO *

RENATO AUGUSTO DA SILVA **, MOACYR R. NILSSON **, MILTON MARQUES DA SILVA ***
WILHELM BRADA *** e JOSÉ FRANCISCO GUIMARÃES ***

I. INTRODUÇÃO

Hirst [8], em 1941, verificou que o vírus da Influenza (gripe humana), têm a propriedade de aglutinar os glóbulos vermelhos de galinha, fenômeno êste que foi denominado "fenômeno de Hirst", o qual é inibido quando se adicionam os anticorpos específicos. Êste fenômeno, foi repetido por vários pesquizadores com outros vírus. Assim, Burnet [3], em 1942, com o vírus da Doença de Newcastle; Lush [10] em 1943 consegue o mesmo resultado com o vírus da Peste aviária e da Doença de Newcastle; Levens e Enders [9], em 1945, com o vírus da Penumonia; Mills e Dochez [11], no mesmo ano, com o vírus da Pneumonia dos camondongos e Burnet e Boake [4], em 1946, com o vírus da Ectromelia dos camondongos.

Após, os trabalhos de Burnet e Lush com o vírus da Doença de Newcastle, as provas de hemaglutinação e de inibição da hemaglutinação tornaram-se necessárias para a identificação do vírus.

Brandly e col. [2], em 1946, e Beach [1], em 1948, utilizaram o mesmo fenômeno para o diagnóstico da Doença de Newcastle.

Fabricant [7], em 1949, fazendo uma comparação dos resultados de inibição da hemaglutinação e de sôro-neutralização, em 56 casos de campo, verificou que o título HI (inibição da hemaglutinação) atingia um título positivo antes do título SN (sôro-neutralização). Em outra série de 185 casos não selecionados de campo, os resultados indicaram que êste teste HI é altamente específico.

II. MATERIAL E MÉTODOS

a) Vírus. — Foram empregadas amostras isoladas de focos naturais, n.º 33 (Macapá) e n.º 4 (São Gonçalo) [5] não formoladas.
b) Sôro. — Obtido de aves em vários estadios da doença.
c) Glóbulos vermelhos de galinha, na diluição de 0,5% em sôro fisiológico a 8,5 por mil.
d) Sôro fisiológico estéril a 8,5 por mil.

Na realização do teste de inibição da hemaglutinação empregamos o Beta teste, conforme recomenda Cunningham [6], o qual passamos a descrever:

O sôro a ser testado era diluido a 1:5 em solução fisiológica. Em uma série de tubos de hemólise colocávamos 0,25 ml da solução fisiológica, a partir do segundo tubo. No primeiro tubo da série, colocávamos 0,25 ml do sôro diluido

* Entregue para publicação em 24 de novembro de 1960.
** Da Seção de Zoonoses por Vírus, do Instituto de Biologia Animal. Rio de Janeiro.
*** Da Seção de Ornitopatologia, do Instituto de Biologia Animal. Rio de Janeiro.

a 1:5; no segundo tubo, a mesma quantidade de sôro diluido a 1:5 era colocada, obtendo-se a diluição 1:10; dêste tubo, após misturarmos várias vêzes, retirávamos 0,25 ml, transferindo-se para o terceiro tubo e assim sucessivamente. A seguir, colocávamos em cada tubo 0,25 ml de vírus contendo 10 unidades hemaglutinantes, calculadas pela prova de hemaglutinação; exemplo: se o vírus titulou na diluição de 1:160, usávamos 0,25 ml da diluição 1:16. Agitávamos os tubos e deixávamos em repouso em temperatura ambiente por 10 minutos. Distribuíamos então 0,25 ml da suspensão de glóbulos vermelhos de galinha a 0,5% em todos os tubos ,inclusive nos testemunhos dos sôros. Os tubos eram agitados e deixados em temperatura ambiente por 45 minutos. As leituras eram realizadas em 15, 30 e 45 minutos, considerando-se como significativos os sôros que inibiam a diluição 1:10.

Os títulos dos sôros por êste método eram calculados multiplicando-se a diluição do último tubo em que houve total inibição da hemaglutinação por 10.

Considerávamos como significativos os títulos HI iguais a 100.

III. RESULTADOS

Dos 50 sôros recebidos do antigo Distrito Federal, atual Estado da Guanabara, 19 apresentaram anticorpos para o vírus da doença de Newcastle.

Do Município de Leopoldina foram recebidos 4 sôros, sendo 3 positivos e do Município de Volta Grande 7 sôros, dos quais 2 positivos.

Do Estado do Rio de Janeiro, de 7 sôros examinados, 4 revelaram anticorpos para o vírus da doença de Newcastle.

No quadro único estão expostos os índices quantitativos em anticorpos dos sôros examinados.

QUADRO ÚNICO

N.º de registros	LOCAL DE ORIGEM	Data do teste	Virus n.º	DILUIÇÕES DOS SOROS								Test. sôro	Test. glóbs.	Títulos dos sôros
				1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640			
817	Jacarepaguá, Estado da Guanabara	17-3-54	33	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1:6.400
844	Campo Grande, Estado da Guanabara	18-3-54	33	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	1:200
852	Realengo, Estado da Guanabara.....	18-3-54	33	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	1:200
853	Realengo, Estado da Guanabara	18-3-54	33	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	1:400
877	Paciência, Estado da Guanabara	3-5-54	33	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	1:3.200
879	Copacabana, Estado da Guanabara	10-5-54	33	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	1:200
881	Copacabana, Estado da Guanabara	10-5-54	33	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	1:200
882	Estrada Rio Petrópolis, km. 20 Estado do Rio.....	10-5-54	33	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	1:100
894	Campo Grande, Estado da Guanabara	21-5-54	33	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	1:400
898	Vigário Geral, Estado da Guanabara	21-5-54	33	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	1:800
912	Deodoro, Estado da Guanabara	31-5-54	33	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	1:800
917	Estrada Rio São Paulo, km. 27, Estado da Guanabara	1-6-54	33	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	1:200

N.º de regis-tros	LOCAL DE ORIGEM	Data do teste	Virus n.º	DILUIÇÕES DOS SOROS								Test. sóro	Test. glóbs.	Títulos dos sóros
				1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640			
930	Paciência, Estado da Guanabara	10-5-54	33	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	1:400
988	Catete, Estado da Guanabara	4-8-54	4	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	1:800
1.005	São João de Merití Estado do Rio	13-8-54	4	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	1:400
1.007	Estrada da Grama Campo Grande, Estado da Guanabara	17- 8-54	4	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	1:100
1.052	Realengo, Estado da Guanabara	6-10-54	33	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	1:400
1.041	Volta Grande, Estado de Minas Gerais	4-10-54	33	—	—	—	+	—	+	+	+	—	—	1:200
1.047	Volta Grande, Estado de Minas Gerais	4-10-54	33	—	—	—	+	—	+	+	+	—	—	1:200
1.065	Engenho de Dentro Estado da Guanabara	21-10-54	33	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	1:1.600
1.066	Realengo, Estado da Guanabara	21- 4-54	33	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	1:800
1.070	Leopoldina, Estado de Minas Gerais	26-10-54	33	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	1:100
1.070	Leopoldina, Estado de Minas Gerais	26-10-54	33	—	—	—	—	+		+	+	—	—	1:400
1.070	Leopoldina, Estado de Minas Gerais	26-10-54	33	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	1:100
1.071	São Bento, Estado do Rio	19-11-54	33	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	1:100
1.071	São Bento, Estado do Rio	19-11-54	33	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	1:100
1.075	Rocha Miranda, Estado da Guanabara	1-11-54	33	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	1:200
1.096	Campo Grande, Estado da Guanabara	1-11-54	33	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	1:400

(—) = Ausência de Hemaglutinação.
(+) = Hemaglutinação.

IV. COMENTÁRIOS

A diferença de títulos entre os vários sôros examinados pode ser explicada pelas diferentes fases de evolução da doença.

O diagnóstico sorológico da doença de Newcastle em zonas não vacinadas pode ser firmado, como também o seu diagnóstico retrospectivo, pelo teste de inibição da hemaglutinação.

V. RESUMO

Os autores, trabalhando com 68 sôros de aves não vacinadas procedentes de diversas localidades do antigo Distrito Federal, atual Estado da Guanabara, do Estado do Rio de Janeiro e do Estado de Minas Gerais, constataram índices significativos para o vírus da doença de Newcastle, quando sumetidos ao teste de inibição da hemaglutinação (Beta teste). Assim, são descritos novos focos da Doença de Newcastle, diagnosticados pelo teste HI (Beta teste), sendo 11 no antigo Distrito Federal, atual Estado da Guanabara, 2 no Estado do Rio de Janeiro e 2 no Estado de Minas Gerais.

THE DIAGNOSIS OF NEWCASTLE DISEASE BY HEMAGGLUTINATION-INHIBITION TEST

Abstract

The hemagglutination-inhibition test (Beta procedure) has showed significant titers of infection by the Newcastle disease virus, when applied to examine 68 serum-strains from not vaccinated chickens. The authors have dealt with fowls from: State of Guanabara (early Distrito Federal); State of Rio de Janeiro and State of Minas Gerais. By way of the above cited procedure the authors have demonstrated the following new outbreaks of Newcastle disease: 11 in the State of Guanabara (early Distrito Federal); 2 in the State of Rio de Janeiro and 2 in the State of Minas Gerais.

VI. REFERÊNCIAS

1) BEACH, J.R. (1948).—The Application of the Hemagglutination-Inhibition Test in the Diagnosis of Avian Pneumoencephalitis (Newcastle Disease). *Jour. Am. Vet. Med. Ass., 112*: 85-91.

2) BRANDLY, C.A.; MOSES, H.E.; JUNGHERR, E.L. & JONES, E.E. (1946).—The Isolation and Identification of Newcastle Disease Virus. *Am. Jour. Vet. Res., 7*: 289-306.

3) BURNET, F.M. (1942).—The Affinity of Newcastle Disease Virus to the Influenza Virus Group. *Aust. Journ. Exp. Biol. and Med. Sci., 20*: 81-88.

4) BURNET, F.M. & BOAKE, W.C. (1946).—The Relationship between the Virus of Infectious Ectromelia of Mice and Vaccinia Virus. *Jour. Immunol., 53*: 1-13.

5) CUNHA, R.G. & SILVA, R.A. (1955).—Isolamento e identificação do virus da doença de Newcastle no Brasil. *Bol. Soc. Bras. Med. Vet., 23*: 17-33.

6) CUNNINGHAM, C.H. (1952).—Methods Employed in the Diagnosis and Investigation of Infectious Bronchitis and Newcastle Disease. *Proc. Book Amer. Vet. Med. Ass. 89th Annual Meeting*: 250-257.

7) FABRICANT, J. (1949).—Studies of the Diagnosis of Newcastle Disease and Infectious Bronchitis of Fowls. I. The Hemagglutination-Inhibition Test for the Diagnosis of Newcastle Disease. *Cornell Vet., 39*: 203-220.

8) HIRST, G.K. (1941).—The Agglutination of Red Cells by Allantoic Fluid of Chick Embryos Infected with Influenza Virus. *Science, 94*: 22-23.

9) LEVENS, J.H. & ENDERS, J.P. (1945).—The Hemoagglutinative Properties of Amniotic Fluid from Embryonated Eggs Infected with Mumps Virus. *Science, 102*: 117-120.

10) LUSH, D. (1943).—The Chick Red Cell Agglutination Test with the Viruses of Newcastle Disease and Fow Plague. *Jour. Comp. Path. and Therap., 53*: 157-160.

11) MILLS, K.C. & DOCHEZ, A.R. (1945).—Further Observations on Red Cell Agglutinating Agent Present in Lungs of Virus Infected Mice. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 60*: 141-143.

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 109-114
1961 — Min. Agricultura, Brasil

NOVOS FOCOS DA DOENÇA DE NEWCASTLE NO BRASIL *

RENATO AUGUSTO DA SILVA **, MOACYR ROSSI NILSSON **,
JOSÉ FRANCISCO GUIMARÃES ***, MILTON MARQUES DA SILVA ***
e WILHELM BRADA ***

I. INTRODUÇÃO

A doença de Newcastle, segundo Doyde [6], é uma doença infecciosa e contagiosa das aves, de caráter agudo, de grande semelhança com a Peste aviária, causada por um vírus filtrável, caracterizando-se por dificuldade respiratória e alta mortalidade.

No Brasil, a doença de Newcastle foi observada pela primeira vez por Andrade dos Santos e cols. [2], no ano de 1953, no Território do Amapá. Ainda, no mesmo ano, Andrade dos Santos e cols constataram a presença da doença em aves, no Município de São Gonçalo, Estado do Rio de Janeiro. Posteriormente, Guimarães e Silva [8], descrevem a doença no Município de Volta Grande, Estado de Minas Gerais; Silva [11], isola o vírus de Faisão, procedente do Estado da Guanabara e Alice e cols. [1], observam a doença na cidade de Salvador, Estado da Bahia, isolando 15 amostras de vírus. Cunha e Silva [5], em 1955 relatam o isolamento e a identificação das amostras de vírus referentes ao Território do Amapá e São Gonçalo e Nobrega [10], estuda os primeiros focos ocorridos em São Paulo. Guimarães [9], em 1956 e em 1961, observou focos da doença em Florianópolis, e em Brasília, respectivamente. Giovanonni [7], em 1961, isolou o vírus de aves doentes do Estado do Paraná.

II. MATERIAL E MÉTODOS

1) *Isolamento de vírus*

Fragmentos de órgão das aves sacrificadas ou encontradas mortas, eram encaminhados ao Instituto de Biologia Animal, em líquidos conservadores, como o líquido de Bedson, líquido de Vallée ou mesmo a glicerina pura.

Freqüentemente, recebíamos aves ainda vivas, que mostravam sintomas neuro-respiratórios. Estas aves eram sangradas para provas sorológicas e logo sacrificadas para a coleta dos orgãos.

Os tecidos comumente usados no preparo das suspensões eram o baço, o cérebro, o pulmão e o fígado. Em alguns casos, o muco traqueal e a gema eram utilizados, segundo o quadro I.

Realizamos as suspensões dos órgãos em caldo simples na proporção de 1 gr de material para 5 ml de caldo simples.

No preparo das suspensões, areia estéril era utilizada em alguns casos, a fim de facilitar a trituração do material.

---

* Entregue para publicação em 24 de novembro de 1960.
** Da Seção de Zoonoses por Vírus, do Instituto de Biologia Animal — Rio de Janeiro.
*** Da Seção de Ornitopatologia, do Instituto de Biologia Animal — Rio de Janeiro.

QUADRO I

Número de registro do material	ORIGEM	Data	Título hemo-aglutinante	Orgãos utilizados
832	Vigário Geral, Estado da Guanabara.	26- 2-54	1:640	Baço, fígado, pulmão e cérebro.
877	Paciência, Estado da Guanabara.	7- 5-54	1:80	Baço e gema
899	Santa Cruz, Estado da Guanabara.	19- 5-54	1:320	Baço e muco traqueal.
922	Santa Cruz, Estado da Guanabara.	20- 5-54	1:320	Baço, fígado e muco traqueal.
923	Santa Cruz, Estado da Guanabara.	20- 5-54	1:80	Baço, fígado e muco traqueal.
924	Santa Cruz, Estado da Guanabara.	20- 5-54	1:320	Baço, fígado e muco traqueal.
996	Santa Cruz, Estado da Guanabara.	9- 8-54	1:320	Cérebro e baço.
1.059	Galeão (II), Estado da Guanabara.	12-10-54	1:1.280	Baço e cérebro.
1.061	Galeão (III), Estado da Guanabara.	12-10-54	1:2.560	Baço e cérebro.
1.064	Galeão (IV), Estado da Guanabara.	12-10-54	1:640	Baço e cérebro.
1.066	Realengo, Estado da Guanabara.	21-10-54	1:320	Baço e gema.
1.072	São Bento, Estado do Rio de Janeiro.	12-10-54	1:80	Cérebro, baço e muco traqueal.
1.082	João Pessôa, Estado da Paraíba.	12-11-54	1:640	Fígado, baço, cérebro e muco traqueal.
1.088	Jacarepaguá, Estado da Guanabara.	14-10-54	1:320	Cérebro e baço.
1.098	Friburgo, Estado do Rio de Janeiro.	1-10-54	1:320	Cérebro, fígado e traqueia.
1.099	Jacarepaguá, Estado da Guanabara.	8-11-54	1:2.560	Cérebro.
1.103	Campo Grande, Estado da Guanabara.	24-11-54	1:2.560	Cérebro e baço.
1.166	Joazeiro, Estado da Bahia.	11- 4-55	1:640	Cérebro, baço e pulmão.
1.167	Joazeiro, Estado da Bahia.	11- 4-55	1:640	Cérebro, baço e pulmão.
1.223	Campo Grande, Estado da Guanabara.	8- 8-55	1:640	Muco traqueal.

A suspensão, assim preparada, era centrifugada por 10 minutos a 2.500 r. p. m., separando-se o sobrenadante após esta operação. O sedimento era então desprezado. Adicionavam-se 1.000 unidades de penicilina potássica (Squibb) e 1 mg de di-hidro estreptomicina (Squibb) por mililitro ao sobrenadante, deixando-se em temperatura de 4°C por meia hora.

Contrôle bacteriológico era efetuado antes da inoculação em ovos embrionados em meios de Thioglicolate ou caldo simples.

Para as inoculações em ovos embrionados, utilizávamos ovos de casca branca, provenientes de granjas particulares ou oficiais, as quais periòdicamente fazem contrôle de pulorose. Êstes ovos eram incubados em chocadeira elétrica, regulada a 105°F, sendo examinados ao ovoscópio antes da inoculação para marcação da câmara de ar e do embrião. A seguir desinfectavam-se com uma solução de iodo a 1% os dois pontos marcados e com um aparelho elétrico (Dremel-Moto Tool) fazíamos uma perfuração ao nivel do embrião, fugindo-se dos grandes vasos e outra na câmara de ar. A seguir passávamos sôbre êstes orifícios um algodão esterilizado, embebido levemente em alcool. Com uma agulha préviamente esterilizada, perfurávamos a membrana da casca da câmara de ar a fim de evitarmos o refluxo do material inoculado.

Para cada material, quatro, cinco ou seis ovos, com 10 dias de incubação eram inoculados com 0,1 ml de suspensão, na cavidade alantoide. Em seguida, os orifícios eram selados com uma mistura de cêra e parafina em partes iguais

e logo após esta operação os ovos voltavam à incubadeira, sendo observados diàriamente durante dez dias.

Os ovos com embriões mortos nas primeiras 24 horas eram eliminados, procedendo-se ovoscopias pela manhã e a tarde com o fito de separar-se os ovos cujos embriões morriam após aquêle primeiro período. Êstes ovos eram colocados em temperatura de 4°C, pelo prazo mínimo de 3 horas para condensação da gema. O líquido alantoidiano de cada ovo era então coletado com pipeta Pasteur, fazendo-se abertura total da câmara de ar com todos os cuidados de assepsia e colocado separadamente em tubos de ensaios. Semeaduras em meios de tioglicolate ou caldo simples de cada líquido coletado eram efetuadas a após 48 horas de prova os líquidos alantoidianos eram reunidos e congelados a — 20°C, para estudos posteriores. Logo a seguir à coleta do líquido alantoidiano, cada embrião era examinado para a verificação das lesões.

2) *Identificação das amostras de vírus*

Na execução da identificação das amostras procuramos seguir as técnicas recomendadas por Cunningham [4], que passaremos a descrever.

a) *Prova de Hemaglutinação*

O líquido alantoidiano a ser testado era diluido a 1:5 em sôro fisiológico a 8,5 por mil. Em uma série de tubos de hemólise colocávamos 0,25 ml de sôro fisiológico a 8,5 por mil, a partir do segundo tubo. No primeiro tubo da série colocávamos 0,25 ml do líquido alantoidiano diluído a 1:5 e no segundo tubo, a mesma quantidade do líquido diluido era colocada, obtendo-se a diluição a 1:10; dêste tubo, após misturarmos várias vêzes, retirávamos 0,25 ml, transferindo-se para o terceiro tubo e assim sucessivamente até obtermos a diluição 5.120, desprezando-se 0,25 ml da última diluição. Em seguida distribuíamos a todos os tubos da série 0,25 ml de sôro fisiológico a 8,5 por mil e 0,25 ml de uma suspensão de glóbulos vermelhos de galinha a 0,5%. Tubos testemunhos de salina e glóbulos eram anexados à prova. Os tubos eram agitados e deixados a temperatura ambiente por 45 minutos, fazendo-se 3 leituras, a primeira aos 15 minutos, a segunda aos 30 minutos e a terceira, aos 45 minutos. Uma reação positiva ou hemaglutinação completa era indicada pelo depósito de numerosos e pequeninos grumos de glóbulos aglutinados no fundo do tubo. Uma reação negativa era dada pelo depósito dos glóbulos em um circulo compacto ocupando apenas o centro do fundo do tubo, como nos tubos testemunhos, com apenas sôro fisiológico e glóbulos. Reações intermediárias foram observadas, mas o título do vírus era considerado como a diluição mais alta do líquido alantoidiano antes da segunda adição do sôro fisiológico, em que a hemaglutinação era evidente.

Os glóbulos vermelhos para a suspensão a 0,5% eram obtidos por punção cardíaca de uma galinha, sendo o sangue coletado em uma seringa contendo solução de citrato de sódio a 2%. Os glóbulos eram lavados em sôro fisiológico e centrifugados a seguir durante 10 minutos a 2.000 r.p.m. Repetia-se esta operação 3 ou 4 vezes até o sobrenadante mostrar-se límpido. O sedimento era então utilizado.

b) *Prova da Inibição da Hemaglutinação*

A prova da inibição da hemaglutinação foi realizada com sôro contendo alto teor em anticorpos para o vírus da doença de Newcastle, por nós preparado, hiperimunizando galinhas com a amostra La-Sotta da doença de Newcastle, mais atenuada que a amostra Beaudette-Roakin, aconselhada para a vacinação

das aves em postura, gentilmente cedida pelo falecido cientista norte-americano, Professor F. R. Beaudette, quando de sua vinda ao Brasil, em 1954.

Os líquidos alantoidianos que deram títulos hemaglutinantes eram submetidos a esta prova.

Realizamos o teste que é denominado alpha por Cunningham [4], seguindo-se a mesma técnica utilizada para a prova de hemaglutinação, sendo que a segunda adição do sôro fisiológico era substituída pelo sôro imune diluido a 1:5, na mesma quantidade. Deixávamos as misturas de sôro e vírus em contato na temperatura ambiente por 10 minutos. Tôdos os tubos receberam também suspensão de glóbulos vermelhos a 0,5% e a leitura da prova também, era feita dentro dos três tempos, isto é, em 15, 30 e 45 minutos. O título de inibição dos sôros era calculado, dividindo-se o título do vírus pelo título do sôro e multiplicando-se o resultado pelo fator de diluição do sôro. O título do sôro era representado pela diluição mais baixa do vírus em que a hemaglutinação era inibida completamente.

III. RESULTADOS

1) *Isolamento das amostras de vírus*

Vinte amostras do vírus da doença de Newcastle foram isoladas, sendo quinze do antigo Distrito Federal, atual Estado da Guanabara, duas do Estado do Rio de Janeiro, uma do Estado da Paraíba e duas do Estado da Bahia.

Com regular frequência tôdas as amostras isoladas foram 100% letais para os embriões no período de 24 a 96 horas após inoculação. Apenas uma única amostra que recebeu no livro de registro da Secção de Zoonoses por Vírus, o número 1.223, desde a sua primeira passagem apresentou período de incubação de 6 a 7 dias, caracterizando-se por determinar lesões atróficas no embrião. Estudo posterior desta amostra será realizado em face de suas propriedades patogênicas. As lesões observadas nos embriões mortos com as outras amostras eram caracterizadas por manchas arroxeadas na nuca, pontilhado hemorrágico disseminado pelo corpo, congestão intensa do fígado, edema da membrana cório-alantoidiana e congestão dos vasos do saco da gema, estando estas lesões concordes com as descritas por Beaudette [3], produzidas pelas amostras norte-americanas.

2) *Identificação das amostras de vírus*

a) *Prova de Hemaglutinação*

Os líquidos alantoidianos provenientes dos ovos inoculados para cada material teve a sua capacidade hemaglutinante examinada. Pela leitura do quadro I, verifica-se que o título hemaglutinante das amostras isoladas variou de 1:80 a 1:2.560.

b) *Prova de Inibição da Hemaglutinação*

Comprovada a infecciosidade dos materiais inoculados para o embrião de galinha e a capacidade hemaglutinante, submetia-se cada amostra de líquido alantoidiano correspondente aos materiais inoculados à prova de inibição da hemaglutinação com sôro contendo alto teor em anticorpos para o vírus da doença de Newcastle.

Pela leitura do quadro II, observa-se que a capacidade hemaglutinante das amostras isoladas foi inibida pelo sôro imune preparado com amostra de vírus La-Sotta, da doença de Newcastle, obtendo-se títulos de inibição não inferiores a 400.

QUADRO II

Inibição da hemaglutinação das amostras isoladas pelo sôro imune da doença de Newcastle

AMOSTRAS DE VIRUS	Sôro imune I.B.A.	DILUIÇÃO DO LÍQUIDO ALANTOIDIANO VIRULENTO											Título de inibição
		1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1.280	1/2.560	1/5.120	
Amostra n.º 832	Sôro imune	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3.200
	Salina	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	
Amostra n.º 877	Sôro imune	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	400
	Salina	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	
Amostra n.º 899	Sôro imune	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.600
	Salina	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	
Amostra n.º 922	Sôro imune	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.600
	Salina	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
Amostra n.º 923	Sôro imune	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	400
	Salina	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	
Amostra n.º 924	Sôro imune	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.600
	Salina	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	
Amostra n.º 996	Sôro imune	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.600
	Salina	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
Amostra n.º 1.059	Sôro imune	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6.400
	Salina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	
Amostra n.º 1.061	Sôro imune	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12.800
	Salina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
Amostra n.º 1.064	Sôro imune	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—	3.200
	Salina	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	
Amostra n.º 1.066	Sôro imune	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.600
	Salina	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	
Amostra n.º 1.072	Sôro imune	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	400
	Salina	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	
Amostra n.º 1.082	Sôro imune	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3.200
	Salina	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	
Amostra n.º 1.088	Sôro imune	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.600
	Salina	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
Amostra n.º 1.098	Sôro imune	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.600
	Salina	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	
Amostra n.º 1.099	Sôro imune	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12.800
	Salina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
Amostra n.º 1.103	Sôro imune	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12.800
	Salina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
Amostra n.º 1.166	Sôro imune	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3.200
	Salina	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	
Amostra n.º 1.167	Sôro imune	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3.200
	Salina	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	
Amostra n.º 1.223	Sôro imune	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3.200
	Salina	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	

(—) = Ausência de Hemaglutinação.
(+) = Hemaglutinação.

IV. RESUMO

No presente trabalho os autores descrevem o isolamento e a identificação de 20 amostras de vírus da doença de Newcastle, sendo quinze amostras do antigo Distrito Federal, atual Estado da Guanabara, duas do Estado do Rio de Janeiro, uma do Estado da Paraíba e duas do Estado da Bahia. Os líquidos alantoidianos coletados dos ovos embrionados infectados revelaram a propriedade de aglutinar glóbulos vermelhos de galinha. Prova de inibição da hemaglutinação com sôro imune preparado no Instituto de Biologia Animal, foi realizada obtendo-se altos títulos de inibição.

NEW OUTBREAKS OF NEWCASTLE DISEASE IN BRAZIL

Abstract

This article deals with the isolation and identification of twenty strains of Newcastle Disease Vírus. Fifteen of these strains have been found in the State of Guanabara (early Distrito Federal); two in the State of Rio de Janeiro, one of them has been encountered in the State of Paraíba and the remainder two in the State of Bahia. The allantoic fluid from the embrionated infected eggs has been shown to agglutinate chicken blood cells. Hemagglutination- inhibition tests made with specific immune-sera prepared at the Instituto de Biologia Animal (Ministério da Agricultura, Brasil) revealed high titers of inhibition.

V. REFERÊNCIAS

1) ALICE, F.J.; NETTO, R.M. & RIBEIRO, M.B. (1956). — Ocorrência da doença de Newcastle na Bahia. *Bol. Inst. Biológico da Bahia, 3* (1): 124-131.

2) ANDRADE DOS SANTOS, J.; SILVA, R.A.; BRADA, W.; MARINHO, E. & CUNHA, R.G. (1954). — Sôbre a ocorrência da doença de Newcastle no Brasil (Nota Prévia). Rev. Mil. Rem. Vet. *14*: 9-11.

3) BEAUDETTE, F.R. (1946). — Newcastle Disease in Poultry. *Cornell Vet. 36*: 105-117.

4) CUNNINGHAM, C.H. (1952). — Methods Employed in the Diagnosis and Investigation of Infectious Bronchitis and Newcastle Disease. *Proc. Book. Am. Vet. Med. Ass. 89th Annual Meeting*: 250-257.

5) CUNHA, R.G. & SILVA, R.A. (1955). — Isolamento e identificação do vírus da doença de Newcastle no Brasil. Bol. Soc. Bras. Med. Vet., 23: 17-33.

6) DOYLE, T.M. (1927) — A Hitherto Unrecorded Disease of Fowls Due a Filter Passing Virus. *Jour. Comp. Path. and Therap., 40*: 144-169.

7) GIOVANONNI M. — *Comunicação pessoal.*

8) GUIMARÃES, J.F. & SILVA, R.A. (1954). — Doença de Newcastle em Minas Gerais (Nota prévia). *Veterinária, 8* (4): 32-33. Rio de Janeiro.

9) GUIMARÃES, J.F. — *Comunicação pessoal.*

10) NÓBREGA, P. — *Comunicação pessoal.*

11) SILVA, R.A. (1954). — Isolamento do vírus da doença de Newcastle em faisão. *Veterinária, 8* (4): 41-43. Rio de Janeiro.

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 115-120
1961 — Min. Agricultura, Brasil

ISOLAMENTO DE VÍRUS RÁBICO DE MORCÊGO NÃO HEMATÓFAGO DA ESPÉCIE PHYLLOSTOMUS HASTATUS HASTATUS (PALLAS)

RENATO AUGUSTO DA SILVA *, GERALDO VEIGA RIVELLO **
e MOACYR ROSSI NILSSON *

I. INTRODUÇÃO

A possibilidade dos morcêgos transmitirem o vírus da raiva aos bovinos e equinos do Estado de Santa Catarina, foi lembrada por Carini [5], em 1911. Posteriormente, Haupt e Rehaag [6], em 1925, descreveram casos de raiva em bovinos e equinos no mesmo Estado, resultantes de mordeduras de morcegos. Hurst e Pawan [7], em 1931, relataram um surto de raiva na espécie humana, na Ilha de Trinidad e sugeriram o morcêgo como transmissôr da doença para o homem e bovinos. Tôrres e Queiroz Lima [15], em 1935, concluiram que nos focos de raiva epizoótica e fora dêles são encontrados morcêgos hematófagos portadores de vírus rábico. Pawan [11], em 1936, diagnosticou a raiva em morcêgos frugívoros das espécies *Artibeus planirostris trinitatis, Hemiderma* e *Diclidurus albus*. Tellez Giron [14], em 1944, isolou vírus rábico das glândulas salivares de um lote de *Desmodus rotundus murinus,* em focos ativos de raiva no México. Johnson [8], em 1948, também diagnosticou a raiva em morcêgos da espécie *Desmodus rotundus murinus,* no México. Málaga-Alba [9], em 1954, examinando 100 cérebros de *Desmodus rotundus* e *Diphylla ecaudata,* encontrou 2 casos positivos de raiva. Venters e cols. [16], em 1954, isolaram o vírus rábico, de morcêgos das espécies *Dasypterus floridanus* e *Lasiurus seminola* ambos insetívoros. Witte [18], em 1954, diagnosticou a raiva na espécie *Lasiurus cinereus,* na Pennsylvania. No mesmo ano, Scatterday [13], constatou a presença de vírus rábico em morcêgos das espécies *Dasypterus floridanus, Lasiurus seminola* e *Tadarida cynocephala,* na Flórida. Burns e Farinacci [3], em 1955, isolaram o vírus da raiva de morcêgo da espécie *Tadarida mexicana,* no Texas. Ainda, no ano de 1956, Burns e col. [4], surgeriram que os morcêgos insetívoros da espécie *Tadarida mexicana,* possam desempenhar importante papel como reservatório de vírus rábico no Texas. Nikolitch e col. [10], em 1956, relataram o isolamento do vírus da raiva de morcêgos insetívoros da espécie *Nyctalus noctula,* na Iugoslavia. Recentemente, Beel e Moore [1], isolaram vírus rábico do tecido adiposo e dos cérebros de morcêgos insetívoros dos gêneros *Eptesicus* e *Myotis* e Villa e col. [17], também isolaram vírus rábico de morcêgos insetivoros da espécie *Mormoops m.megalophylla,* no México.

II. MATERIAL E MÉTODOS

Histórico do material

Os morcêgos que deram origem ao presente trabalho, foram capturados pelo Dr. Aurélio Málaga Alba, em janeiro de 1957, quando de sua vinda ao Rio

* Da Seção de Zoonoses por Vírus do Instituto de Biologia Animal. Rio de Janeiro.
** Do Instituto de Biologia Animal.

de Janeiro, a fim de estudar o problema da Raiva no Brasil. Êstes morcêgos foram apanhados na Igreja de São Benedito de Corôa Grande, no Distrito de Corôa Grande, Município de Itaguaí, no Estado do Rio de Janeiro. Nêste Município ocorre frequentemente casos de raiva em bovinos e equinos, não relacionados com cães.

Os morcêgos, em número de quatro, foram trazidos ao Instituto de Biologia Animal, ainda vivos e no mesmo dia, sacrificados; sendo coletados os cérebros e conservados em temperatura de menos 20°C. O exame da caixa craneana dêstes quirópteras feito pelo Dr. Málaga-Alba, revelou sinais de mordedura e em um dêles havia dilaceramento da base do craneo.

Dois exemplares foram levados para o México, sendo classificados pelo Professôr Bernardo Villa (Mastozoologista da Oficina Sanitária Panamericana, zona II), como *Phyllostomus hastatus hastatus*. Os outros dois exemplares foram enviados ao Dr. Carlos Vieira da Cunha, do Departamento de Zoologia da Secretaria do Estado de São Paulo e também foram classificados como *Phyllostomus hastatus hastatus*.

Na realização do presente trabalho, foram efetuados exames para o isolamento e a identificação do vírus.

1) *Isolamento de vírus*

Para o isolamento de vírus preparamos suspensão de cada cérebro de morcêgo em sôro fisiológico a 8,5 por mil, os quais haviam permanecido por 12 horas na temperatura de menos 20°C. Em seguida estas suspensões foram centrifugadas durante 15 minutos a 2.000 r.p.m. Para cada sobrenadante obtido, inoculou-se um grupo de 8 camondongos de 4 semanas de idade, pela via intra-craneana na dose de 0,03 ml.

Com material nervoso, constante de cérebro de camondongo morto na primeira passagem (quadro I), realizamos nova suspensão em sôro-fisiológico, tendo-se o cuidado de tratar pelo éter a suspensão obtida. Após a eliminação do éter na geladeira, inoculou-se um grupo de 8 camondongos de 28 dias de idade, pela via intra-craneana, na dóse de 0,03 ml.

2) *Identificação do vírus*

Para a identificação do vírus foram realizados exames *a*) histo-patológicos e *b*) prova de sôro-neutralização.

a) *Exame histo-patológico*

Consistiu êste exame em se efetuar esfregaços em lâmina de um dos hemisférios cerebrais de camondongo, proveniente da segunda passagem do material em estudos, empregando-se a técnica de Faraco[2]. O outro hemisfério cerebral foi incluido em parafina, sendo os cortes corados pela Hematoxilina-eosina.

b) *Prova de sôro-neutralização*

Para a realização desta prova utilizamos sôro imune contra a Raiva, prèviamente preparado por nós em cavalo; um sôro normal de cavalo e um sôro imune contra a Raiva, do Instituto Biológico de São Paulo, gentilmente cedido pelo Dr. René Corrêa.

O preparo do sôro imune consistiu em submetermos um cavalo a 10 vacinações com uma vacina anti-rábica glícero fenicada, cuja proteção foi avaliada pelo teste de Habel em 28.850 DL_{50}. A dose da vacina utilizada foi de 30 ml, sendo a via de inoculação, a sub-cutânea. Cinco dias após a ultima vacinação, foram inoculados 10 ml de uma diluição a 1:10 de vírus rábico fixo Pasteur, pela via intra-muscular, na coxa. Decorridos 14 dias desta inoculação, foi realizada a sangria para obtenção do sôro.

Consistiu a prova, em se colocar quantidades iguais de vírus, em diluição que variaram de 10^{-1} a 10^{-7} e de sôro ou salina, em tubos de hemólise. Agitavam-se bem os tubos, permanecendo as misturas em banho-maria a 37°C, por meia hora; após êste tempo, os tubos contendo as misturas eram transferidos para um banho de gêlo, procedendo-se as inoculações intra-craneanas em camondongos de 4 semanas de idade.

III. RESULTADOS

1) *Isolamento de vírus*

Pela leitura do quadro I, verifica-se que decorridos 7 dias da inoculação, um camondongo morre sem ter apresentado sintomas de doença. No dia imediato, outro camondongo adoece e para uma melhor observação foi deixado para ser sacrificado no dia seguinte, amanhecendo então, morto. Os restantes camondongos apresentam-se normais por um período de observação de 1 mês.

QUADRO I

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	14	15	16
8	.	.	.	.	.	.	M									
7	.	.	.	.	.	.	.	D	M							
6	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		.	.	.	.
5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
4	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

NOTA — Convenção: . = Camondongo normal; D — Camondongo Doente; M — Camondongo Morto.

No quadro II, está expresso o resultado da 2.ª inoculação em camondongos, com suspensão de cérebro do camondongo que morreu no nono dia após a inoculação com material original. Decorridos 6 dias da inoculação, aparecem um camondongo paralítico e três doentes. No dia seguinte, o camondongo paralítico amanhece morto e os três doentes mostram-se paralíticos, tendo adoecido outros dois, restando um, aparentemente normal.

Passagens subsequentes em cérebro de camondongos reduziram o período de incubação do vírus para 3 ou 4 dias.

As demais suspensões originais de cérebros dos outros morcêgos coletados foram consideradas negativas para a Raiva, após um período de observação dos animais de 30 dias.

QUADRO II

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
8	M															
7	.	.	.	.	.	P	M									
6	.	.	.	.	.	D	P	S								
5	.	.	.	.	.	D	P	S								
4	.	.	.	.	.	D	P	S								
3	.	.	.	.	.	.	D	M								
2	.	.	.	.	.	.	D	P	M							
1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

NOTA — Convenção: . — Camondongo normal; D — Camondongo Doente; P — Camondongo Paralítico; M — Camondongo Morto; S — Camondongo Sacrificado.

2) *Identificação do vírus*

a) *Exame histopatológico*

O exame dos esfregaços de cérebro de camondongo, na 2.ª passagem, revelou a presença de numerosos corpúsculos de Negri e o estudo do cérebro, após inclusão em parafina revelou encefalite não purulenta e presença de corpúsculos de Negri no citoplasma de células nervosas.

b) *Prova de sôro-neutralização*

O quadro III, mostra o resultado desta prova. Os sôros imunes do I.B.A. e do Inst. Biológico, apresentaram índices de neutralização de 2,0 e 1,32, correspondendo a uma neutralização de 1.738 e 8.318 doses letais 50% em camondongo. O sôro normal de cavalo não apresentou índice de neutralização. O título infectante do sôro normal foi $10^{-4.69}$. O título do vírus considerado foi dado pela mistura de vírus mais sôro fisiológico, que corresponde a diluição 1:17.380.

Verifica-se pela prova de sôro-neutralização, que a amostra de vírus isolada foi neutralizada pelos sôros imunes, possuidores de anticorpos contra o vírus da Raiva.

QUADRO III

VÍRUS ISOLADO DE MORCÊGO	Título em DL 50/0,03 ml	RESULTADOS
		N.º de DL 50 neutralizadas
Vírus + salina	$10^{-5.24}$	
Vírus + sôro normal de cavalo	$10^{-4.69}$	0
Vírus + sôro imune IBA	$10^{-2.0}$	1.738
Vírus + sôro imune inst. Biológico	$10^{-1.32}$	8 318

IV. RESUMO

Os autores isolaram o vírus da Raiva do cérebro de um morcêgo da espécie *Phyllostomus hastatus hastatus* (Pallas), procedente do Município de Itaguaí, no Estado do Rio de Janeiro. O vírus foi obtido pela inoculação da suspensão de cérebro em camondongos, pela via intra-cerebral.

A amostra de vírus isolada de morcêgo comportou-se como vírus rábico em face das provas de inoculação em animais de laboratório (camondongos), pela formação de corpúsculos de Negri nas células nervosas do camondongo e pela neutralização com sôros contendo anticorpos para o vírus rábico. Na prova de sôro-neutralização, utilizando sôros do Instituto de Biologia Animal e do Instituto Biológico de São Paulo.

V. AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Dr. Aurélio Málaga-Alba, Professôr Bernardo Villa, Dr. Carlos da Cunha Vieira e Dr. René Corrêa, pela colaboração prestada no presente trabalho. Ao patologista, Dr. Jefferson Andrade dos Santos, apresentamos igualmente os nossos agradecimentos pelos exames histopatológicos realizados.

THE ISOLATION OF RABIES VIRUS FROM NONSANGUIVOROUS BATS, *PHYLLOSTOMUS HASTATUS HASTATUS* (PALLAS)

Abstract

The authors examinating four brains from bats (*Phyllostomus hastatus hastatus*) and from one of them they isolated the rabies vírus. Identification of the vírus was made by presence of Negri bodies on the nervous cells of microscopic preparations of brain's mice and neutralization tes tes with immune sera prepared at the Instituto de Biologia Animal (Ministério da Agricultura) and at the Instituto Biológico of São Paulo.

VI. REFERÊNCIAS

1) Beel, J.F. & Moore, G.J. (1960).—Rabies Virus from Brown Fat of Naturaly Infected Bats. *Proc. Soc. Exp. Biology, 103*: 140-142. N York.

2) Bier, O. (1951).—*Bacteriologia e Imunologia,* 5.ª edição, pg. 713.

3) Burns, K.F. & Farinacci, C.J. (1955).—Rabies in Nonsanguivorous Bats of Texas. *Jour. Infec. Diseases, 97*: 211-218.

4) Burns, K.F., Farinacci, C.J. & Murnane, T.G. (1956).—Rabies in Insectivorous Bats of Texas. *Jour. Am. Vet. Med. Ass., 128* (1): 27-31.

5) Carini, A. (1911).—Sur une grande épizootie de rage. *Ann. Inst. Pasteur, 11*: 843-846.

6) Haupt, H. & Rehaag, H. (1925).—Raiva epizoótica nos rebanhos de Santa Catarina (Sul do Brasil) transmitida por morcegos. *Bol. Soc. Bras. Bras. Med. Vet.,* II *(1-2)*: 17-47.

7) Hurst, E.W. & Pawan, J.L. (1931).—An Outbreak of Rabies in Trinidad without Story of Bites and with the Symptom of Acute Ascending Myelitis. *Lancet, 2*: 622-628.

8) Johnson, H.N. (1948).—Derriengue; Vampire Bats Rabies in México. *Am. Jour. Hyg., 47*: 189-204.

9) Mallaga-Alba, A. (1954).—El Vampiro portador de la rabia. *Bol. Of. San. Panamericana, 37* (1): 53-65.

10) Nikolitch, M. & Jelesic, Z. (1956).—Isolation of Rabies Virus from Insectivorous Bats in Yugoslavia. *Bull. World Hlth. Org., 14*: 801-804.

11) PAWAN, J.L. (1936).—The Transmission of Paralytic Rabies in Trinidad by the Vampire Bat. *Ann. Trop. Med. and Paras., 30*: 101-130.

12) REED, L.J. & MUENCH, H. (1938).—A Simple Method of Estimating Fifty per Cent End-Points. *Am. Jour. Hyg., 27*: 493-497.

13) SCATTERDAY, J.E. (1954).—Bats Rabies in Florida. Jour. *Am. Vet. Med. Assi., 124* (923): 125.

14) TELLEZ GIRON, A. (1944).—El Vampiro portador de virus del Derriengue. *Rev. de la Soc. Mexic. de Hist. Nat., 5* (1-2): 35-42.

15) TORRES, S. & QUEIROZ LIMA, E. (1935).—A Raiva e sua transmissão por morcêgos hematófagos e infectados naturalmente. *Rev. Dep. Nac. da Prod. Animal,* I *(1, 2 e 3)*: 1-66.

16) VENTERS, H.D., HOFFERT, W.R., SCATTERDAY, J.E. & HARDY, A.V. (1954).—Rabies in Bats in Florida. *Am. Jour. Publ. Hlth. 44*: 182-185.

17) VILLA B.R. & JIMENEZ, A.G. (1960).—Acerca da la posicion taxonomica de Mormoops megalophylla senicula (Rehn) y la presencia de virus rábico en estos murcielagos insectivoros. *Anales del Inst. de Biologia, 31 (1, 2)*: 501-509.

18) WITTE, E.J. (1954).—Bats Rabies in Pennsylvania. *Am. Jour. Publ. Hlth., 44*: 186-187.

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 121-126
1961 — Min. Agricultura, Brasil

A PESQUISA DE VÍRUS RÁBICO EM MORCÊGOS DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO *

RENATO AUGUSTO DA SILVA **, CARLOS BRAZ COLA ***,
HEMETÉRIO FERNANDES DO RÊGO ** e AUGUSTO RUSCHI ****

I. INTRODUÇÃO

A Raiva, desde muitos anos, constitue um dos sérios problemas sanitários do rebanho herbívoro do Estado do Espírito Santo. Blanc de Freitas [2], em 1929, estudando o problema da raiva nêste Estado, relatou os prejuizos ocasionados pela doença. "O município de Santa Thereza tem um prejuizo anual de 250:000$; Cariacica, perde anualmente, animais no valor aproximado de 180 a 300 contos. Esses prejuizos alarmantes traduzem apenas o valor dos animais mortos; não são computados os prejuizos comerciais decorrentes da morte de animais, embora se saiba que no interior quase todo transporte é feito por tropa; não estão computadas as perdas sofridas pela producção agricola, embora se tenha conhecimento de que por occasião de um surto rábico, paralisam-se todos os trabalhos por morte dos animais de serviço. Há no Estado do Espirito Santo 12 municipios intensamente atacados e 5 outros inteiramente contaminados. A raiva continua a avançar rapidamente para o norte e para o sul e dentro em breve estará todo o Estado contaminado, para o sul a epizootia já avançou além das fronteiras e numerosos casos tem sido observados no visinho Estado do Rio em municipios limitrofes com o Espirito Santo".

Com o intuito de se investigar a presença de vírus rábico entre as diversas espécies de morcêgos do Estado do Espírito Santo, elaboramos um plano de trabalho, que foi aprovado pelo antigo Diretor do Instituto de Biologia Animal, Dr. Sylvio Tôrres. Êste plano consistiu inicialmente na captura de morcêgos das regiões onde havia ocorrido casos de raiva entre os herbívoros, na classificação dêstes morcêgos e na coleta de cérebro e glândulas parótidas para inoculação em animais de laboratório e realização de estudos histopatológicos. Em uma segunda etapa, seriam estudadas as condições de vida dos quirópteros do Estado, como também incluiríamos o estudo para o combate biológico dêstes mamíferos e para tal fim, construiu-se um morcegário no Museu Mello Leitão, em Santa Tereza, sob a orientação do Naturalista, Dr. Augusto Ruschi.

A pesquisa de vírus rábico em morcêgos nos focos de raiva tem sido realizada por diversos pesquisadores. Haupt e Rehaag [5], em 1925, descreveram o isolamento de vírus rábico de morcêgo da espécie *Phyllostoma superciliatum*, no Estado de Santa Catarina. Tôrres [13], em 1934, relatou o isolamento de vírus rábico de morcêgo *D. rotundus*, capturados em Livramento, Estado de Mato Grosso. Queiroz Lima [10], em 1934, isolou vírus rábico de morcêgo da espécie *D. rotundus*, no Estado de Santa Catarina. Camará Martins, citado

* Entregue para publicação em 24 de novembro de 1960.
** Da Seção de Zoonoses por Vírus, do Instituto de Biologia Animal, Rio de Janeiro.
*** Veterinário Sanitarista da Secretaria de Agricultura, Terras e Colonização do Estado do Espírito Santo.
**** Naturalista do Museu Mello Leitão, Santa Tereza. Estado do Espírito Santo.

por Queiroz Lima [10], também isolou o mesmo vírus de *D. rotundus,* ainda em Santa Catarina. Metivier [8], em 1935, relatou que 10% dos morcêgos da espécie *D. rotundus,* capturados na Ilha de Trinidad, encontravam-se infectados pelo vírus rábico. Pawan [11], em 1936, em Trinidad, pesquisando corpúsculos de Negri em 2.059 morcêgos, encontrou 64 positivos, sendo 59 *D. rotundus,* 4 *Artibeus planirostris trinitatis* e 1 *Hemiderma*. Tellez Giron [12], em 1944, no México, isolou o vírus da raiva das glândulas salivares de 8 exemplares de *D. rotundus murinus*. *Malaga-Alba* [6], em 1954, examinando 100 cérebros de *D. rotundus* e *D. ecaudata,* isolou 2 amostras de vírus rábico. No mesmo ano, Venters e cols. [14], capturaram na Flórida 208 morcêgos das espécies *Dasypterus floridanus* e *Lasiurus seminola,* isolando 7 amostras de vírus rábico. Burns e Farinacci [3] em 1955, no Texas, pesquisando virus rábico em 72 morcêgos da espécie Tadarida mexicana, isolaram 2 amostras de vírus rábico. Malaga-Alba [7], em 1956, trabalhou com 154 morcêgos capturados na Colômbia, relatando que todos os morcêgos com excessão de 8 dos 56 *D. rotundus* examinados, resultaram negativos ao exame microscópicos e 3 amostras de vírus rábico foram obtidas. Nikolitch [9], ainda em 1956, na Iugoslavia, diagnosticou raiva em morcêgos da espécie Nyctalus noctula. Bauer [1], em 1956, realizou pesquisa de vírus rábico em morcêgo do Estado do Rio Grande do Sul, isolando 4 amostras de vírus rábico de 26 *D. rotundus* capturados. Trabalhou êste autor com 32 cérebros de morcêgos hematófagos e insetívoros e Jamet e col. [4] no Peru, em 1957, não verificaram a presença de vírus rábico em 104 morcêgos de diferentes espécies.

II. MATERIAL E MÉTODOS

Para a execução do presente trabalho, inicialmente faziam-se as capturas dos morcêgos nas diferentes zonas do Estado, os quais eram numerados e separados em grupos para a classificação. Seccionava-se longitudinalmente o cérebro de cada morcêgo, sendo parte dêste cérebro colocada em líquido de Bedson e a outra parte, em formol a 10% para a realização do estudo histopatológico, a cargo do Dr. Jefferson Andrade dos Santos, chefe da Seção de Anatomia Patológica do Instituto de Biologia Animal. As glândulas parótidas de cada morcêgo, eram também retiradas e colocadas em vidros contendo líquido de Bedson. Os materiais assim coletados e devidamente identificados eram remetidos ao I.B.A., por via aérea.

O número total de cérebros e glândulas parótidas das espécies de morcêgos capturadas no Estado do Espírito Santo, está expresso no quadro I.

QUADRO I

ESPÉCIES	Número de cérebros	Número de glândulas parótidas
1. Desmodus rotundus rotundus	28	56
2. Diphylla ecaudata	5	10
3. Tonatia brasiliensis	54	108
4. Trachops cirrhosus	13	26
5. Artibens jamaicensis lituratus	8	16
6. Tonatia amblyotis	1	2
7. Anoura geoffoyi	1	2
8. Lonchoglossa caudifera	3	6
9. Lonchophylla mordax	1	2
10. Lasiurus cinereus	3	6
11. Myotis nigricans nigricans	1	2
12. Peropteryx macrotis macrotis	4	8
13. Phyllostomus hastatus hastatus	1	2
14. Peropteryx Klappleri	1	2
15. Molussus rufus rufus	1	2
Número total de materiais	125	250

1) *Isolamento de vírus*

Para o isolamento de vírus rábico dos diversos morcêgos capturados, utilizamos os cérebros e as glândulas parótidas.

a) *Suspensão de cérebro*

Cada hemisfério cerebral, correspondente a determinado morcêgo era colocado em um gral e lavado com sôro fisiológico estéril, a fim de retirarmos ao máximo a glicerina. Em seguida, o material era triturado. Adicionavam-se 3 ml de salina a cada material. Centrifugávamos as suspensões preparadas durante 10 minutos a 2.000 r.p.m. Cada sobrenadante obtido era inoculado em lote de 8 camondongos de 28 dias de idade, pela via intra-craneana, na dose de 0,03 ml. Êstes animais, eram observados diàriamente por um período de 30 dias.

b) *Suspensão de glândulas parótidas*

As suspensões destas glândulas eram feitas, seguindo-se a técnica adotada para as suspensões de cérebro. Cada suspensão era constituida de 2 glândulas parótidas referentes a determinado morcêgo.

2) *Identificação dos morcêgos capturados*

Os diversos morcêgos capturados pelo Dr. Carlos Cola, foram classificados pelo Naturalista, Dr. Augusto Ruschi, no Museu Mello Leitão.

III. RESULTADOS

1) *Isolamento de vírus*

a) *Suspensão de cérebro*

As suspensões dos 125 cérebros de morcêgos recebidos do Estado do Espírito Santo, foram inoculadas em camondongos, revelando-se negativas para a Raiva.

b) *Suspensão de glândulas parótidas*

As 125 suspensões de glândulas parótidas, inoculadas em camondongos deram também resultados negativos nêstes animais.

2) *Identificação dos morcêgos*

No quadro II, estão relacionadas as espécies de morcêgos classificadas, como também, a procedência dêstes animais; a data de captura e os resultados negativos das inoculações em camondongos.

QUADRO II

ESPÉCIES	Procedência	Número de morcêgos capturados	Local	Data de captura	*Inoculação em camundongo* Resultados
1. Desmodus rotundus rotundus (E. Geoffroy)	Estrada do Contôrno — Ilha de Vitória	2	Gruta de Pedra	20- 1-55	Negativo
	Gruta do Oratório — Município de Villa Velha	18	» » »	1- 3-55	»
	Ilha das Caiçaras — Município de Vitória	4	» » »	19- 4-55	»

QUADRO II

ESPÉCIES	Procedência	Número de morcêgos capturados	Local	Data de captura	*Inoculação em camundongos* Resultados
	Monte Líbano — Município de Cachoeiro de Itapemerim	1	Gruta de Pedra	20- 9-55	Negativo
	Garrido — Villa Velha	1	» » »	31-10-55	»
	Morro do Villante — Município de Serra	2	» » »	14-11-55	»
2. Diphylla ecaudata (Spix)	Morro do Villante — Município de Serra	1	» » »	26- 8-55	»
	Fazenda Monte Líbano — Município de Cachoeira de Itapemerim	4	» » »	7- 7-59	»
Tonatia brasiliensis (Peters)	Colheiras — Município de Villa Velha	1	» » »	26- 1-55	»
	Garrido — Município de Villa Velha	26	» » »	11- 2-55	»
	Garrido — Município de Villa Velha	1	» » »	3- 6-55	»
	Garrido — Município de Villa Velha	1	» » »	31-10-55	»
	Duas Bocas — Município de Cariacica	2	» » »	1- 4-55	»
	Goiabeiras — Município de Vitória	1	Berço de uma Criança	18- 4-55	»
	Ponte da Passagem	5	Gruta de Pedra	4- 5-55	»
	Ponte da Passagem	1	» » »	14- 5-55	»
	Araçatiba — Município de Viana	1	» » »	14- 5-55	»
	Araçatiba — Município de Viana	1	» » »	6- 5-55	»
	Oratório — Município de Villa Velha	1	» » »	14- 7-55	»
	Palácio do Govêrno — Vitória	1	Pé de uma palmeira	29- 9-55	»
	Município de Anchieta	1	Gruta de Pedra	20-10-55	»
	Morro do Villante — Município de Serra	1	» » »	26- 8-55	»
	Morro do Villante — Município de Serra	1	» » »	14-11-55	»
	Belo Horizonte — Município de Anchieta	1	» » »	20-10-55	»
	Colheiras — Barra do Jacú — Município de Villa Velha	2	» » »	23-11-55	»
	Estrada do Contôrno — Vitória	1	» » »	24-11-55	»
	Estrada do Contôrno — Vitória	1	» » »	12-12-55	»
	Município de Guaraparí	2	» » »	29-11-55	»
	Nova Almeida — Município de Serra	1	Porões do Convento dos Reis Magos	15-12-55	»
	Santa Maria do Rio Fundo — Município Domingos Martins	1	Gruta de Pedra	27-12-55	»
4. Trachops cirrhosus (Spix)	Colheiras — Município de Villa Velha	2	» » »	26- 1-55	»
	Colheiras — Município de Villa Velha	1	» » »	23-11-55	»
	Garrido — Município de Villa Velha	10	» » »	14- 2-55	»
5. Artibeus Jamaicensis literatus (Lichnstein)	Ilha de Vitoria	3	Copa de árvore	4- 2-55	»
	Praia Comprida — Vitória	1	» » »	31- 7-55	»
	Praia Comprida — Vitória	1	» » »	24- 8-55	»
	Maruipe — Vitória	1	Em (VÔO)	23- 8-55	»
	Maruipe — Vitória	1	Copa de árvore	28-12-55	»
	Maruipe — Vitória	1	» » »	28-12-55	»
6. Tonatia amblyotis (Wagner)	Jaguari — Município de São Mateus	1	Cama de uma Criança	26- 4-55	»
7. Anoura geoffroyi (Gray)	Garrido — Município de Villa Velha	1	Gruta de Pedra	31-10-55	»

QUADRO II

ESPÉCIES	Procedência	Número de morcêgos capturados	Local	Data de captura	*Inoculação em camundongos* Resultados
8. Lonchoglossa caudífera (geoffrey)	Ilha das Caieiras — Vitória	1	Gruta de Pedra	19- 4-55	Negativo
	Morro do Villante — Município de Serra	1	» » »	14-11-55	»
	Nova Almeida — Município de Serra	1	Convento dos Reis Magos	15-12-55	»
9. Lonchophyila mordax (Thomas)	Garrido — Município Villa Velha	1	Convento dos Reis Magos	3- 6-55	»
10. Lasiurus cinereus (gray Thomas)	Maruipe — Vitória	1	Copa de árvore	10 5--55	»
	Ponte da Passagem — Vitória	1	Gruta de Pedra	14- 5-55	»
	Praia Comprida — Vitória	1	Copa de árvore	25- 8-55	»
11. Myotis nigricans nigricans (Wied)	Praia do Canto — Vitória	1	Em VÔO	30-10-55	»
12. Peropteryx macrotis macrotis (Wagner)	Município de Guaraparí	1	Gruta de Pedra	29-11-55	»
	Município de Cariacica	3	» » »	1- 4-55	»
13. Phyllostomus hastatus hastatus (Pallas)	Itapoca — Município de Viana	1	Dorso de um Bezerro	6- 4-55	»
14. Peropteryx Kllappleri (Peters)	Garrido — Villa Velha	1	Gruta de Pedra	11- 2-55	»
15. Molossus rufus rufus	Rancho Alto — Município de Linhares	1	Oco de árvores	26- 7-55	»

IV. RESUMO

Os autores trabalharam com 125 cérebros e 250 glândulas parótidas de morcêgos capturados em vários Municípios do Estado do Espírito Santo, onde ocorre a Raiva sob a forma epizoótica em herbívoros domésticos, não conseguindo isolar d'aqueles tecidos o vírus da raiva. Utilizaram o camondongo como animal de experimentação. Nêste trabalho foram classificadas 15 diferentes espécies de morcêgos.

V. AGRADECIMENTOS

Consignamos ao Dr. Sylvio Tôrres, antigo Diretor do Instituto de Biologia Animal, os nossos agradecimentos pelas facilidades proporcionadas para a execução do presente trabalho.

RESEARCH OF RABIES VIRUS IN BATS IN THE STATE OF ESPIRITO SANTO

Abstract

The authors examinated 125 brains and 250 parotid glands from various species of bats capturated in the State of Espírito Santo, where is outbreaks of rabies in domestic herbivorous.

In this worke fifteen species of bats were studied.

VI. REFERÊNCIAS

1) BAUER, A.G. (1956-57).—Considerações sôbre a raiva bovina e sua transmissão por morcegos do Rio Grande do Sul. *Arq. Inst. Pesq. Vet. Desidério Finamôr, 2*: 19A-22. Rio Grande do Sul.

2) BLANC DE FREITAS, H. (1929).—A raiva e sua prophylaxia pela vaccinação. *Rev. de Zootec. e Veterinária, 15* (2-3): 93-99.

3) BURNS, K.F. & FARINACCI, C.J. (1955).—Rabies in Nonsanguivorous Bats of Texas. *Jour. Infect. Diseases, 97*: 211-218.

4) JAMET, P.A. & VASQUEZ, J.Z. (1957).—Estudio en quiropteros de la region de San Martin (Perú) como probables reservorios de rabia. *Bol. Of. San. Panamericana, 42* (3): 211-222.

5) HAUPT, H. & REHAAG, H. (1925).—Raiva epizoótica nos rebanhos de Santa Catarina (Sul do Brasil) transmitida por morcegos. *Bol. Soc. Bras. Med. Vet., II* (1-2): 17-47.

6) MALAGA-ALBA, A. (1954).—El vampiro portador de la rabia. *Bol. Of. San. Panamericana, 37* (1): 53-65.

7) Idem. (1956).—Projeto regional de control de rabia na Colombia. Oficina Sanitária Panamericana. Mexico.

8) METIVIER, H.V.M. (1935).—Paralytic Rabies in Livestock. *Jour. Comp. Path. and Therap., 48* (4): 245-260.

9) NIKOLITCH, M. & JELESIC, Z. (1956).—Isolation of Rabies Virus from Insectivorous Bats in Yugoslavia. *Bull. World Hlth. Org., 14*: 801-804.

10) QUEIROZ LIMA, E. (1934).—A transmissão da raiva dos herbívoros pelos morcegos hematóphagos da família Desmodontidae. *Rev. Dep. Nac. Prod. Animal, I* (2, 3, 4): 165-173.

11) PAWAN, J.L. (1936).—The Transmission of Paralytic Rabies in Trinidad by the Vampire Bat. *An. Trop. Med. and Paras., 30*: 101-130.

12) TELLEZ GIRON, A. (1944).—El vampiro portador del derriengue. *Rev. Soc. Mex. Hist. Natural, 5* (1, 2): 35-42.

13) TORRES, S. (1934).—Morcegos da família Desmodontidae e seu papel na transmissão de molestias aos animaes. *Rev. do Dep. Nac. Prod. Animal, I* (5, 6): 25-35.

14) VENTERS, H.D., HOFFERT, W.R., SCATTERDAY, J.E. & HARDY, A.V. (1954).—Rabies in Bats in Florida. *Am. Jour. Publ. Hlth., 44*: 182-185.

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 127-131
1961 — Min. Agricultura, Brasil

TUMOR DE CÉLULAS INTERSTICIAIS DO TESTÍCULO EM COELHO

J. Freire de Faria *

I. INTRODUÇÃO

O estudo da oncologia comparada nos autoriza a indicar o coelho como uma das espécies domésticas menos sensível às neoplasias espontâneas.

Nossa contribuição vem juntar-se a de vários pesquisadores que têm se preocupado com o assunto. Assim é que Cohrs, Jaffé e Meessen [3] no tratado sôbre Patologia dos Animais de Laboratório, baseados em extensa revisão bibliográfica, registram 98 tumores em coelhos, oriundos dos diversos tecidos, cabendo ao carcinoma o primeiro lugar na ordem de incidência seguido de longe pelos sarcomas, adenomas, tumores mixtos, leiomiomas, teratomas, miosarcomas e papilomas. Ainda na ordem de incidência por órgãos, são as neoplasias uterinas as mais comuns, seguidas das oriundas dos rins, dos ossos, pele, mamas e glândulas endócrinas. Dumas [7], fazendo também uma ampla revisão sôbre a matéria, cita entre outros, os trabalhos de Fardeau, que descrevendo 71 tumores espontâneos na espécie em aprêço, encontrou, 30 localizados no útero. Outras referências ao assunto são encontradas nos trabalhos de: Polson [13], Courteau [4], Tamaschke [15, 16], Tokarnia e Döbereiner [17], Dacorso [5], Burrows e Gibson [2], Kerting e Hammersen [11], Brown e Pearce [1], Holz [10], Seifried [14], Dacorso, Langenegger e Faria [6], Feldman [8].

Tumores dos testículos

A literatura especializada sôbre tumores testiculares, na espécie, indica apenas, os trabalhos de Parne e Peyron [12] descrevendo um epitelioma seminífero (seminoma) no testículo direito de um coelho de 8 anos de idade e os de Hoffmann [9] sôbre a ocorrência de um adenocarcinoma no testículo de um coelho da raça Chinchila de 4 anos de idade, portador de metástases nas primeiras vértebras caudais.

Não foi encontrada em nossa busca bibliográfica qualquer citação sôbre tumores de células intersticiais em coelho o que nos autoriza a registrar como a primeira ocorrência na espécie em estudo.

II. MATERIAL E MÉTODOS — NOSSA OBSERVAÇÃO

Trata-se de um coelho da raça Chinchila de 5 anos de idade trazido para necrópsia no Laboratório de Anatomia Patológica do Instituto de Biologia Animal.

Os achados necroscópicos revelaram o testículo esquerdo medindo 5,5 cm por 5,5 cm, maior que o oposto, de consistência fibrosa, exibindo no bordo superior um nódulo arredondado fazendo proeminência na superfície, bem delimitado do resto do parênquima e medindo 2,8 cm por 2,5 cm. Ao corte notava-se

* Do Instituto de Biologia Animal.

que o nódulo invadia o órgão testicular, ocupando dois terços do seu total, possuia consistência firme e coloração amarelada.

Nos exames microscópicos das preparações coradas pela dupla coloração — hematoxilina-eosina — impregnação argêntica de Gomori e tricrômico de Gomori, observa-se processo encapsulado por delgada membrana conjuntiva colágena, pelo menos em parte das seções, constituido por agrupamentos celulares difusos, sem formação de lojas, contendo numerosos vasos de dimensões variadas sendo comum o achado de grandes lacunas, cheias de sangue e de paredes apenas endoteliais.

Há extensas zonas de necrobiose, em que se vem grandes vasos, ocupados por trombos e de paredes endoteliais exclusivamente, percebendo-se, nessas áreas, o desenho dos contôrnos celulares, a par de depósitos esferoidais ou pulvurentos de cálcio. A trombose desses vasos é recente, não havendo indícios de organização. Os septos fibrosos são, no interior do processo, escassos, havendo poucas zonas em que se tornam mais espessos e em que contém maiores feixes colágenos, ainda distendidos por edema e percorridos por vasos de paredes capilares túrgidos de sangue.

As massas celulares neoplásicas formam, ora cordões volumosos, ora ilhotas irregulares que se apoiam sempre sôbre paredes vasculares capilares, assumindo destarte aspecto endócrino.

Esses cordões formados por uma, duas ou por pouco numerosas fileiras de células volumosas poliédricas, de limites celulares pouco nítidos, com citoplasma basófilo abundante, homogêneo, contendo finos vacúolos regulares e numerosos; os núcleos são esferoidais, de tamanhos variados, com membrana nuclear bem marcada, pobres em cromatina com um único nucléolo. Frequentemente estas células são binucleadas, a par de outras cujo núcleo é volumoso e hipercromático, ou assumem forma bizarra, não se observando figuras de mitoses. Raramente vêm-se massas globosas acidófilas no citoplasma de alguns oncocitos, deformando as células que tomam aspecto globoso.

De permeio com êsses elementos celulares vêm-se raros leucócitos, predominando os linfócitos, havendo entretanto raros polimorfonucleares.

A estrutura endócrina é regular, lembrando por vêzes cordões da zona fascicular da camada cortical da adrenal, apoiando-se os oncocitos diretamente sôbre o endotélio dos capilares sinusoides ou sôbre o endotélio das volumosas lacunas cheias de sangue. Notam-se agrupamentos celulares em que a disposição cordonal não se mantém, tomando forma de grandes ilhotas, em cujo centro se vêm elementos histiocitários, fragmentos celulares, leucócitos e células neoplásicas livres, arredondadas e de citoplasma espumoso. Nessas zonas pseudocísticas é comum verem-se hemorragias recentes e a fusão de células neoplásicas livres na luz dessas cavidades, imitando gigantocitos multinucleados, contendo poucos núcleos, três a cinco.

Raros campos mostram tendência a formar túbulos, irregularmente revestidos por essas células, que se empilham em grupos de 2 a 3 elementos, fazendo saliência para a luz e com aspecto sincicial.

A impregnação argêntica evidencia finas fibrilas reticulares quer nos septos fibrosos espessos, quer em torno de grupos tubulares de células blastomatosas, quer ainda individualmente circunscrevendo cada célula. Essas fibrilas emitem outras mais delicadas que envolvem tubos ou cordões celulares, que, quando não circunscrevem totalmente cada oncocito, pelo menos o recobrem parcialmente.

É comum o achado de células blastomatosas cujo núcleo contém massa homogênea que desloca a cromatina para a região cortical, imitando a forma de inclusões intranucleares.

III. CONCLUSÃO

Os estudos histopatológicos evidenciaram massas neoplásicas dispostas ora em cordões ora em ilhotas irregulares apoiadas em paredes vasculares com aspecto endócrino.

As células neoplásicas são volumosas de forma poliédrica com citoplasma espumoso, basófilo e com núcleos esferóides. Células binucleadas ou com formas bizarras são freqüentemente observadas.

As preparações quando tratadas por métodos eletivos argênticos revelam fibras reticulares individualizando oncocitos ou delimitando grupos celulares blastomatosos fazendo lembrar o comportamento das células intersticiais.

IV. RESUMO

O Autor descreve um caso de tumor de células intersticiais em testículo de coelho da raça Chinchila com 4 anos de idade.

V. AGRADECIMENTO

Penhorado, agradecemos aos Professores Paulo Dacorso Filho e Jefferson Andrade dos Santos pela ajuda e orientação dispensada ao nosso trabalho.

INTERSTICIAL CELL TUMOR IN THE TESTIS OF A CHINCHILA BREED RABBIT

Abstract

The author describes a case of intersticial cell tumour in the testis of a Chinchila breed rabbit.

VI. REFERÊNCIAS

1) Brown, W.H. & Pearce, L. (1926).—Melanoma (sarcoma) of the eye in a syphilitic rabbit. Jour. Exper. Med., 43, 807.

2) Burrows, D. & Gibson, J.B. (1957).—Primary meningeal melanoma in a rabbit. Jour. Path. Bact., 74, 439-440.

3) Cohrs, P. Jaffé, R. & Meessen, H. (1958).—Pathologie der Laboratoriumstiere, Tomo II, pg. 478. Ed. Springer Berlin — Göttingen — Heidelberg.

4) Courteau, R. (1935).—Pathologie Comparée de Tumeurs chez les mamiféres. Monographies sur les Tumeures. Paris. Ed. François.

5) Dacorso Filho, P. (1943).—Contribuição ao Estudo de Oncologia Comparada. Tese de Concurso.

6) Dacorso Filho, P.; Langenegger, J. & Faria, J.F. (1959).—Melanoma maligno generalizado em coelho. An Col. Anatômico Brasileiro. 5, 131-141.

7) Dumas, J. (1953).—Les Animaux de Laboratoire. Collection de L'Institut Pasteur. Paris. Editions Méd. Flammarion.

8) Feldman (1932).—Neoplasms of Domesticated Animals. Ed. Philadelphia and London W.B. Saunders Company.

9) Hoffmann, J.A. (1954).—Hodenkrebs bei einem Kaninchen. Berl. u. Münch. Tierärzt. Ztschr. 350. Citado no trabalho de Cohrs, P.; Jaffé, R. und Meessen, H.

10) Holz, K. & Heutgens, W. (1955).—Multiple Melanombildung bei einem Kaninchen. Dtsch. Tieräztl. Wschr. 146.

11) Kerting, G. & Hammersen, F. (1958).—Ein Teratom der Chiasmagegend beim Kaninchen. Zbl. Vedmed. 5, 601-608.

12) Parne & Peyron. (1918).—Bull. Assoc. França. Étude Can. 11, 547. Citado no trabalho de Cohrs, P.; Jaffé, R. und Meessen, H. e de Dumas, J.

13) Polson, C.J. (1927).—Tumours of the Rabit. Jour. of Path. 30, 603.

1b) Seifried, O. (1927).—Die wichtigsten Krankkeiten des Kaninchen. Monographie, München. E.J.F. Bergman.

15) Tamaschke, C. (1951/52).—Beiträge zur Vergleichenden Onkologie der Haussäugetiere. Wiss. Z. Humboldt-Univ. 1, 37-77.

16) Tamaschke, C. (1955).—Die Spontantumoren der kleinen Laboratoriumssäuger in ihrer Bedeutung für die Experimentelle Onkologie. Strahlentherapie, 26, 150-168.

17) Tokarnia, C.H. & Döbereiner, J. (1954).—Osteosarcoma em Coelho. Bol. Soc. Bras. Med. Vet., 22, 25-41.

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 127-131
1961 — Min. Agricultura, Brasil

Fig. 1: *Testículo esquerdo do coelho exibindo a neoplasia.*

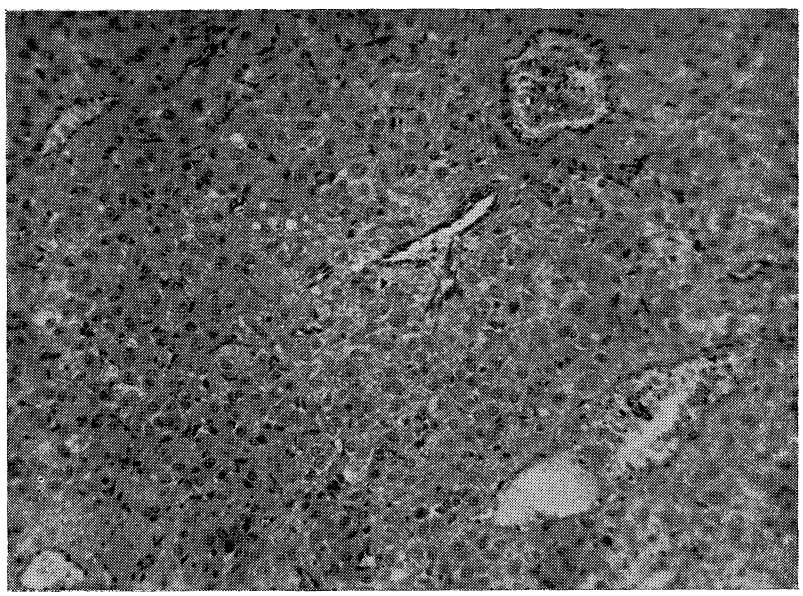


Fig. 2: *Coloração pela hematoxilina de Delafield e eosina. Neoplasia do testículo vendo-se células poliédricas apoiadas em vasos capilares. Obj. 20.*

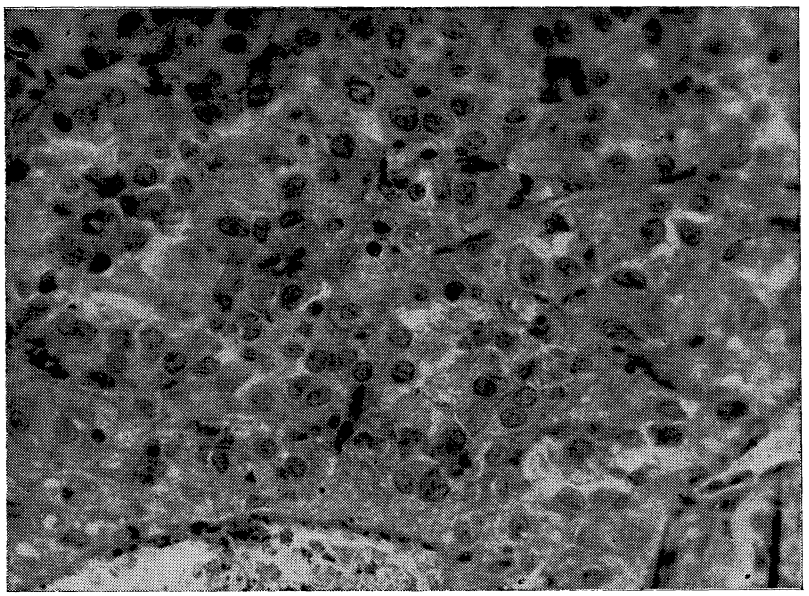


Fig. 3: *Coloração pela hematoxilina de Delafield e eosina. Células neoplásicas em detalhes. Obj. 40.*

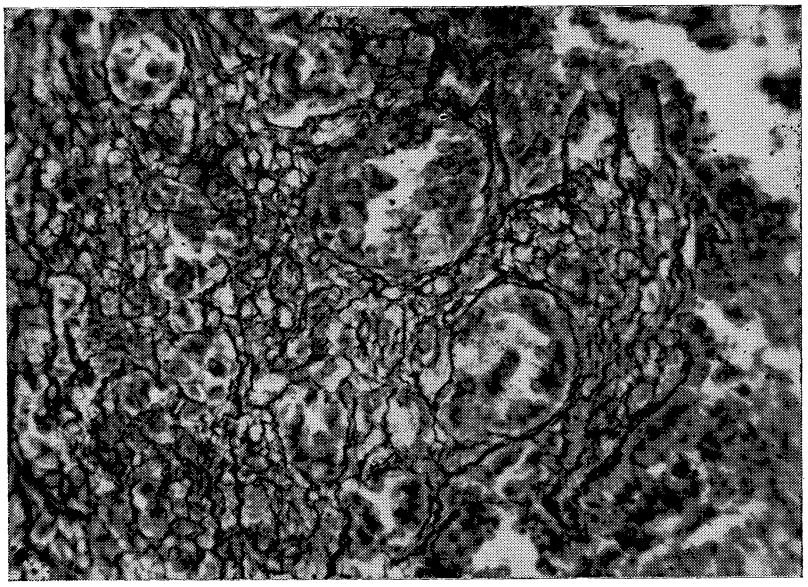


Fig. 4: *Impregnação argêntica pelo método de Gomori. Vêem-se fibras reticulares individualizando as células neoplásicas ou delimitando ninhos celulares. Obj. 20.*

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 133-167
1961 — Min. Agricultura, Brasil

SÔBRE A OCORRÊNCIA DE UM HEPATOMA ENZOÓTICO ENTRE COELHOS

(Nota prévia)

J. ANDRADE DOS SANTOS *

I. INTRODUÇÃO

A baixa incidência de neoplasias espontâneas entre coelhos está bem realçada por Feldman [14] e Tamaschke [27] frisando êstes autores que esta espécie juntamente com a cabra é aquela em que os neoplasmas menos aparecem, exceção feita da cobaia, animal em que as estatísticas indicam uma ocorrência ainda mais baixa de blastomas que entre os próprios coelhos (Dumas) [11].

É de autoria de Fardeau [13] uma das melhores revisões bibliográficas do assunto. Neste trabalho, ralizado em 1931, conseguira o autor computar até então, 71 casos de tumores no coelho. Afirma êste autor que os animais portadores tinham em geral uma idade compreendida entre 5 e 8 anos, sendo mais raramente atingidos os jovens; eram os blastomas mais comuns nas fêmeas que nos machos. O útero parecia constituir o órgão em que as neoplasias mais surgiam na espécie e o autor nos 71 casos perlustrados registra 30 comprometendo o útero dos quais 29 com malignidade. Dentre êstes últimos tumores, 12 provinham de animais de uma mesma criação; as neoplasias se localizavam em um dos cornos uterinos e daí se propagavam ao outro corno e depois a outros órgãos.

Uma segunda revisão do assunto, publicada em 1958, está no tratado sôbre patologia dos animais de laboratório de autoria de Cohrs, Jaffé e Meessen [8]. Nesta oportunidade já 98 casos de tumores de coelhos eram consignados, sendo 17 sarcomas, 4 leiomiomas, 1 miosarcoma, 1 papiloma, 16 adenomas, 44 carcinomas, 13 tumores mistos e 2 teratomas.

Na literatura brasileira há duas excelentes contribuições ao assunto a 1.ª um trabalho de Tokarnia e Döbereiner [29] no qual descrevem êstes investigadores um osteosarcoma primitivo da região submaxilar esquerda com metástases múltiplas, em fêmea adulta da raça Azul de Viena. Referem-se êstes autores a um hipernefroma cortical benigno e a um sarcoma subcutâneo em coelhos adultos, casos que integram uma coleção de neoplasias dos animais existentes na Seção de Anatomia Patológica do Instituto de Biologia Animal, estando contudo o 1.º tumor citado, na tese de Dacorso [9] sôbre neoplasias de animais ocorrendo no País.

O 2.º trabalho é de Dacorso, Langenegger e Faria [10]. Nêle os autores apresentam um caso de melanoma maligno generalizado em coelha da raça Chinchila adulta; constituía esta neoplasia a única observada entre 156 coelhos necropsiados por êstes autores.

No caso mais particular dos tumores primitivos do fígado, assunto que constitui objeto do presente trabalho, há possìvelmente apenas 3 menções aos mesmos

* Da Seção de Anatomia Patológica do Instituto de Biologia Animal, Prof. Catedrático da Faculdade de Veterinária da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

na bibliografia especializada; elas estão citadas no tratado de Dumas sôbre animais de laboratório (bib. cit.). São elas: a) um adenocarcinoma gigante, com nódulos múltiplos do volume de um ôvo de pomba que destruíra a cápsula do órgão e provocara metástases nos gânglios, na serosa intestinal e na cápsula supra-renal, descrito por van Niessen, b) dois tumores primitivos do fígado correlacionados com a presença de "prorospermias" (sic) (Schweizer) e c) finalmente um sarcoma de células redondas (Katase).

Em uma revisão bibliográfica, mesmo sucinta acêrca de neoplasmas em coelhos, 3 singulares blastomas ocorrendo nesta espécie animal não devem deixar de ser mencionados. Referimo-nos ao fibroma de Shope e ao papiloma de Shope, tumores produzidos por vírus filtráveis e ao tumor de Brown Pearce neoplasma transplantável dêste animal.

O fibroma de Shope foi descrito em 1932 por êste autor [22] no coelho "cotton tail"; êle é transmissível por suspensões celulares e filtrados. É um tumor nodular do tecido subcutâneo, onde é móvel nos planos regionais; histològicamente é um fibroma bastante celular. O tumor se transmite ao coelho doméstico, porém ao cabo de pouco tempo o processo involui neste animal. O vírus responsável é encontrado apenas no tumor e êle confere imunidade contra o vírus do mixoma infeccioso do coelho.

O papiloma de Shope foi descrito no ano seguinte por êste mesmo autor [23] em coelhos "cotton tail" da região ocidental dos Estados Unidos. São tumores numerosos no mesmo animal (1 a 10 e às vêzes até uma centena). Êle é reproduzido por material filtrado e não filtrado. Carcinomas espinocelulares nos pontos de inoculação dêste tumor se desenvolvem quando se usa coelhos domésticos na experimentação (Rous e Beard) [21].

O carcinoma de Brown Pearce foi descrito por êsses autores em 1920-1921, durante seus estudos sôbre a sífilis do coelho. O tumor se desenvolveu no local de um cancro curado; em tal local 4 anos atrás tinha sido inoculado o Treponema (amostra Zinsser-Hopkins). O portador do tumor, um albino macho, veio a morrer. O tumor, segundo os autores é epitelioma da raiz do bulbo do pêlo. Durante dois anos os autores propagaram o tumor através 20 passagens, com sucesso, usando a via testicular (Andrade dos Santos) [2]. Foulds [15], verificou depois que metástases dos transplantes dêste tumor ocorriam nas supra-renais, rins, olhos e menos freqüentemente no fígado e nos pulmões, havendo uma distribuição similar da disseminação, após inoculação venosa. Entretanto, nos animais tratados vitalmente pelo azul de tripan, o baço, o fígado e os pulmões eram a séde mais freqüente das metástases.

Quanto à ocorrência de hepatomas com caráter enzoótico, registra a literatura o fenômeno entre camundongos e patos.

Na primeira espécie, conforme Burns e Schenken [6] ocorrem hepatomas benignos nos animais da linhagem C_3H. Nestas observações êstes autores descrevem corpúsculos de inclusão intracitoplásmicos nas células tumorais bem como em hepatócitos não tumorais dêste animal. Tais inclusões foram comparadas às da cinomose e da ectromelia.

Posteriormente, Andervont e Dunn [1] conseguiram em 81 hepatomas induzidos ou espontâneos, aparecendo nos camundongos consangüíneos, transplantá-los subcutâneamente em 1 a 4 membros de suas linhagens de origem. De 36 hepatomas que cresceram na 1.ª geração, 31 se propagavam 2 a 15 vézes e depois descontinuaram enquanto que 5 falharam em 6 transplantes. Em virtude de falhas nos transplantes os autores acham que fatores não genéticos são importantes na transplantabilidade dêstes tumores. Os autores usaram na indução dos tumores, entre outras substâncias o aminoazotolueno.

Os tumores determinados pelo aminoazotolueno reproduziam com muita semelhança o tecido do fígado mas em algumas oportunidades os tumores obtidos eram hemangioendoteliomas.

Na 2.ª espécie animal, as observações sôbre hepatoma enzoótico são de autoria de Campbell[7]. Verificou êste autor 22 casos de carcinomas espontâneos do fígado de patos em 4 criações.

Os transplantes por enxertos para outros foram bem sucedidos porém as tentativas para demonstrar um agente livre de células, em filtrados ou em culturas em embrião de galinha, foram sem sucesso.

II. MATERIAL E MÉTODOS

Todos os casos estudados provém de uma criação de coelhos em que animais de pedigree são criados para fins de reprodução; ela está sita no Município de Itaguaí — Estado do Rio de Janeiro.

A maior parte do material trabalhado era retirado de animais portadores da neoplasia e que eram recebidos no laboratório para necropsia e evidenciação da respectiva "causa mortis".

Em raras oportunidades, eram recebidos já formolizados os órgãos dos animais que mortos pela neoplasia tinham sido anteriormente necropsiados por veterinários.

Os tecidos lesados eram fixados em solução a 20% de formol em salina, incluídos em parafina e corados pela Hematoxilina-Eosina e pelo PAS; o método de Feulgen[19] era também utilizado quando ao exame microscópico dos tecidos pela H.E. eram observadas estruturas comparáveis a corpúsculos de inclusão.

Tentativas de reprodução do tumor por meio de emulsões celulares e de filtrados acelulares eram feitas, devendo o resultado destas observações constituir objeto de trabalho futuro.

III. RESULTADOS

Durante o trabalho de necropsias de 120 coelhos adultos no período compreendido entre abril de 1958 e setembro de 1961, o hepatoma ocorreu 35 vêzes e foi responsabilizado pela morte do animal portador (29% da causa da morte de todos os animais adultos necropsiados).

Pelas diferentes raças de coelhos o tumor teve a seguinte distribuição:

Branco Nova Zelândia	16 casos
Azul de Viena	12 "
Chinchila	3 "
Vermelho Nova Zelândia	1 caso
Raças não especificadas	3 casos

O tumor não foi observado entre animais da raça Castor-Rex (6 necropsiados) e da raça Negro-Fogo (2 necropsiados).

A neoplasia incidiu mais sôbre os espécimes da raça Branco Nova Zelândia, constituindo a mesma, a causa da morte de 72% dos animais adultos desta raça; seguem-se o Azul de Viena (63%), o Vermelho Nova Zelândia (16%) e o Chinchila (10%).

Em 25 vêzes o tumor foi observado em fêmeas, 4 vêzes em machos e 6 vêzes o sexo não estava especificado.

Em 25 vêzes o tumor mostrava manifestações metastáticas e em 10 estava limitado ao fígado.

As metástases tinham a seguinte distribuição:

pulmões	25 vêzes
rins	6 "
ovário	3 "
baço	3 "
epíploon	1 vez
coração	1 "
gânglios lombo aórticos	1 "

Em seguida faremos uma descrição sucinta dos achados de necropsia e respectivo subtrato histopatológico dos casos observados.

Coelho n.º 1 — Animal fêmea da raça Azul de Viena.

À necropsia, tumor arredondado de côr amarelada do tamanho de uma tangerina no lobo esquerdo do fígado; numerosíssimos nódulos de aspecto idêntico disseminados por ambos os pulmões. Nódulo idêntico no ovário direito. (Fotografias 1 e 2).

Histològicamente o tumor é constituído de cordões celulares que lembram as traves hepáticas, sendo porém mais espessos que estas; entre êstes esboços de traves, capilares; os limites celulares são em geral indistintos e as células formam freqüentemente aglomerados que poderiam ser comparados a sincícios, os núcleos redondos ou arredondados; citoplasma amplo e fortemente eosinófilo. Células bizarras, de talhe gigante com 3-4 núcleos não são raras nos diferentes campos microscópicos. Massas amorfas que dão PAS positivo são observadas entre grupos de células.

Dentro dos núcleos, formações acidófilas, comparáveis a inclusões; elas são numerosas, redondas, ovóides ou em forma de salsicha; muitas são de tal diâmetro que ocupam tôda a superfície nuclear.

Tais inclusões quando coradas pelo Feulgen mostram-se Feulgen negativas com partículas Feulgen positivas na sua periferia (Microfotografias 1, 2 e 3).

Na metástase ovariana (Microfotografia 4) o tumor reproduz as imagens descritas no fígado ocorrendo também o material amorfo PAS positivo, bem como as inclusões intranucleares.

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular maligno com metástases pulmonares e ovarianas.

Coelho n.º 2 — Azul de Viena. Animal necropsiado tendo sido firmado um diagnóstico de Hepatoma com metástases pulmonares como "causa mortis".

Histopatologia: No fígado, os nódulos tumorais são arredondados e separados do resto do parênquima hepático por traves hepáticas comprimidas, onde se percebem células com imagens vacuolares de gordura; os elementos celulares tumorais lembram os hepatócitos sendo porém mais volumosos e faltando no conjunto a organização trabecular do fígado; núcleos volumosos, não sendo raras as células dispostas em ilhotas e centralizadas por vaso capilar.

Campos em que as células tumorais assumem a forma de cordões, são freqüentes bem como outros em que áreas lacunares são centralizadas por material amorfo e eosinofílico, que se mostra PAS positivo em algumas preparações.

Na metástase pulmonar as células tumorais se mostram sôltas em uma ganga conjuntiva. Há inclusões nos núcleos daquelas células (Microfotografia 19).

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular maligno com metástases pulmonares.

Coelho n.º 3 — Azul de Viena. Animal necropsiado com um diagnóstico de Hepatoma com metástases pulmonares e esplênicas.

Histopatologia: O tumor mostra ao lado de áreas de muito pouca anaplasia em que apenas uma ou outra célula gigante constitui a única forma imatura, campos com sinais muito evidentes de anaplasia. Há áreas de necrobiose no seio do tumor; séptos conjuntivos com vasos com angiectasia são observados. Na metástase esplênica o tumor assume aspecto acinoso e com forte trama conjuntiva de permeio a êstes ácinos. As metástases pulmonares não foram estudadas histològicamente.

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular com metástases pulmonares e esplênicas.

Coelho n.º 4 — Animal Branco Nova Zelândia. Foi firmado no "post-mortem" um diagnóstico de Hepatoma maligno com metástases pulmonares de aspecto miliar.

Não foram retiradas amostras de tecidos para exames histopatológicos pela má conservação do cadáver.

Coelho n.º 5 — Animal Azul de Viena. No "post-mortem" foi verificado um Hepatoma com metástases pulmonares (Fotografia 3).

Histopatologia: Nódulos tumorais arredondados anaplásicos que se insinuavam em áreas fibróticas, tomando às vêzes o tumor um aspecto esquirroso. Lesões de congestão e de angiomatose nos vasos circunvizinhos.

Algumas hemorragias no seio do tumor. Fígado com aparência normal nas áreas não invadidas pelo tumor.

Em áreas de menor anaplasia inclusões intranucleares, basófilas, que ocupam boa parte da superfície nuclear; têm estas inclusões às vêzes uma estrutura morular.

Nas metástases pulmonares os nódulos são arredondados. Há um certo grau de anaplasia; há inclusões intranucleares em um grande número de células assumindo aquelas, formas morulares.

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular maligno com metástases pulmonares.

Coelho n.º 6 — Animal Branco Nova Zelândia. Animal com um diagnóstico de Hepatoma com metástases pulmonares.

Histopatologia: Nódulos tumorais múltiplos e esquirrosos; células tumorais volumosas e com citoplasma vacuolar.

Nos pulmões os nódulos metastáticos são raros e o tumor assume um aspecto alveolar.

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular maligno com metástases pulmonares.

Coelho n.º 7 — Animal Azul de Viena. Animal morto com um diagnóstico de Hepatoma solitário do fígado sem disseminação metastática, ao exame "post-mortem".

Não foram retiradas amostras de tecidos para exames histopatológicos em virtude da má conservação do cadáver.

Coelho n.º8 — Animal Azul de Viena. Animal morto com um diagnóstico de Hepatoma solitário do fígado sem disseminação metastática, ao exame "post-mortem".

Histopatologia: Tumor de aspecto nodular revestido por falsa cápsula constituída de traves hepáticas comprimidas em tôrno da qual se percebem vasos

sangüíneos em ectasia; as células tumorais se dispõem formando estruturas centralizadas por material necrótico. Nos túbulos são freqüentes as figuras de anaplasia.

Nas áreas do fígado não invadidas pelo tumor há lesões de hepatite intersticial.

Diagnóstico: Hepatoma colangiocelular anaplásico.

Coelho n.º 9 — Animal Branco Nova Zelândia. Animal morto com um diagnóstico de Hepatoma com numerosas metástases pulmonares, ao exame "post-mortem".

Não foram retiradas amostras de tecidos em virtude da má conservação do cadáver.

Coelho n.º 10 — Animal Branco de Nova Zelândia. O fígado mostrava grandes nódulos amarelados que se disseminavam por todo o parênquima. Nódulos do mesmo aspecto, porém menores eram distribuídos uniformemente por ambos os pulmões (Fotografia 4).

Massas com aspecto idêntico ao dos nódulos tumorais do fígado eram observadas envolvendo em camada mais ou menos uniforme, ambos os rins.

Histopatologia: O tumor é envolvido por pseudo-cápsula formada por traves hepáticas comprimidas. Ao redor do tumor, vasos fortemente dilatados.

Dois aspectos são bem evidenciados neste blastoma: a) porções em que êle é nìtidamente hepatocelular (Microfotografia 5), b) porções em que o mesmo é colângiocelular e bastante anaplásico. De permeio, nas duas áreas, células bizarras com citoplasma e núcleos monstruosos (Microfotografia 6 e 7).

No pulmão lesado a formação de êmbolos tumorais é bem evidente em alguns campos (microfotografia 8). Nas metástases neste órgão, elementos multinucleares de aspecto sincial são freqüentes (Microfotografias 9, 10 e 11).

A metástase renal é de tipo hepatocelular.

Diagnóstico: Hepatoma misto com malignidade, com disseminação metastática para os pulmões e rins.

Coelho n.º 11 — Animal fêmea, de raça Branco Nova Zelândia.

À necrópsia uma grande massa tumoral sediada no lobo central do fígado, sendo ausentes os focos metastáticos.

Histopatologia: O tumor tem um caráter nìtidamente nodular e mostra-se delimitado do parênquima hepático normal por uma falsa cápsula formada por traves hepáticas comprimidas; em alguns pontos êle tem os caracteres de um hepatoma hepatocelular com anaplasia e em outros êle se apresenta como um hepatoma colângiocelular também com anaplasia; em ambos os campos, células bizarras aparecem de permeio.

Diagnóstico: Hepatoma misto anaplásico.

Coelho n.º 12 — Animal Chinchila, com um diagnóstico de Hepatoma maligno com metástases pulmonares.

Histopatologia: Nódulos tumorais arredondados, múltiplos, pequenos envoltos por traves hepáticas comprimidas em uns pontos e por tecido conjuntivo em outros; o tumor tem características de um Hepatoma hepatocelular com pouca anaplasia; nas porções do fígado não cancerizadas percebem-se focos de necrose com hemorragias localizadas nas partes média e periférica do lóbulo, bem como figuras de regeneração de canais biliares.

As metástases pulmonares são relativamente amplas e reproduzem com fidelidade e neoplasia hepática. Há inclusões intranucleares basófilas.

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular maligno com metástases pulmonares.

Coelho n.º 13 — Animal fêmea da raça Azul de Viena.

Animal necropsiado, tendo-se firmado como "causa mortis" Hepatoma solitário do fígado.

Histopatologia: Delimitado por falsa cápsula constituída de traves hepáticas comprimidas, Hepatoma hepatocelular com elevado grau de anaplasia, ao lado de porções em que a anaplasia é mínima reproduzindo estas áreas com muita fidelidade o tecido hepático normal, as células aí são contudo inchadas e de citoplasma vacuolar não sendo raras nestas porções, células bizarras com 2 núcleos.

Diagnóstico: Hepatcma hepatocelular anaplásico.

Coelho n.º 14 — Animal macho, da raça Azul de Viena.

No exame "post mortem" foi comprovado um Hepatoma maligno com metástases pulmonares, renais, cardíacas e esplênicas.

Histopatologia: No fígado há numerosos e pequenos nódulos tumorais cujas células se dispõem freqüentemente em sincícios, há focos de necrobiose no tecido hepático circunvizinho.

Na metástase esplênica (Microfotografia 12) são comuns as células gigantes com figuras bizarras de núcleos. Focos de necrobiose e hemorragias são observados no tecido esplênico circunvizinho.

Êmbolos tumorais nos vasos sangüíneos e linfáticos, são freqüentes no pulmão. Na metástase dêste órgão as células bizarras observadas no baço, aí aparecem com freqüência.

Há inclusões intranucleares basófilas.

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular maligno com metástases pulmonares, renais, cardíacas e esplênicas.

Coelho n.º 15 — Animal fêmea da raça Branco Nova Zelândia.

Animal recebido vivo e em muito mau estado de nutrição; uma grande massa tumoral era palpada no fígado. O animal foi sacrificado por inalação prolongada de éter.

No fígado, massa tumoral amarela, do tamanho de um limão volumoso e numerosos nódulos idênticos porém menores que se disseminavam por todo o órgão, eram observados. Nódulos miliares com alguma transparência foram vistos na superfície de ambos os pulmões e nas cápsulas renais.

Histopatologia: No fígado, os nódulos tumorais são pouco distintos do parênquima hepático normal; as células tumorais são de contornos poligonais, citoplasma amplo, com núcleos às vêzes bizarros; inclusões acidófilas são perceptíveis nos núcleos de tais células (Microfotografia 14).

São observadas metástases pulmonares e na cortical do rim (Microfotografia 15).

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular maligno com metástases pulmonares e renais.

Coelho n.º 16 — Animal Branco Nova Zelândia.

No exame "post-mortem" foi feito um diagnóstico de Hepatoma maligno com disseminação intrahepática e pulmonar.

Os nódulos tumorais são arredondados e limitados por células hepáticas volumosas e de contornos poligonais (elementos em forma de "célula vegetal"). O tumor é acentuadamente anaplásico, não sendo raras as células gigantes com núcleos bizarros.

Nas áreas do fígado distantes da neoplasia, sinais de degeneração gorda e de necrose nas porções médias do lóbulo hepático; nestas áreas do fígado são ainda perceptíveis figuras de regeneração de canais biliares.

Nas metástases pulmonares há uma reprodução do tumor hepático, havendo apenas um menor grau de anaplasia.

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular maligno com metástases pulmonares.

Coelho n.º 17 — Animal fêmea, Branco Nova Zelândia.

No "post-mortem" foi firmado um diagnóstico de Hepatoma maligno com metástases pulmonares, no rim direito e no baço. (Fotografia 5).

Histopatologia — Tumor sem uma anaplasia muito acentuada dispondo-se os elementos tumorais em cordões ou ilhotas; as células hepáticas que circundam o tumor são volumosas e poliédricas (elementos em "célula vegetal").

Metástases são observadas na cortical dos rins, nos pulmões e no peritôneo, reproduzindo as mesmas o tumor primitivo.

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular maligno com metástases pulmonares, renais e peritoneais.

Coelho n.º 18 — Animal Azul de Viena.

Nódulos tumorais múltiplos do fígado, do tamanho variável entre o de um grão-de-bico ao de uma noz. Nódulos tumorais miliares, de tamanho uniforme, disseminados pela superfície de ambos os pulmões; nódulo solitário tumoral do rim e do ovário direito. Nódulo tumoral do tamanho de uma laranja, aderente ao epíploon. (Fotografia 6).

O tumor hepático é de caráter nodular e não encapsulado, sendo constituído de ilhotas celulares que se dispõem em maciços; as figuras de anaplasia são constantes e do mesmo modo células gigantes de núcleos bizarros.

As metástases pulmonares reproduzem o tumor hepático.

Na metástase epiplóica as figuras de anaplasia são mais ecassas que no fígado, ocorrendo nas células inclusões intranucleares basófilas.

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular maligno com metástases pulmonares, ovariana, renal e epiplóica.

Coelho n.º 19 — Animal Branco Nova Zelândia.

No exame "post-mortem" foi observada uma tumoração com cêrca de 10 cm de diâmetro e numerosas outras massas menores, disseminadas por todo o órgão.

Sinais de invasão metastática dos gânglios lombo aórticos e de ambos os pulmões.

Histopatologia: O tumor lembra muito o tecido hepático normal, sendo freqüentes as células com disposição trabecular e não raras entretanto as células que se dispõem formando pequenas ilhotas; em ambas as porções, células de aspecto bizarro.

Os focos metastáticos do pulmão mostram sinais evidentes de anaplasia.

Na substância medular do rim surpreende-se uma metástase comparável à vista nos pulmões (Microfotografias 16 e 17).

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular maligno com metástases ganglionares, pulmonares e renais.

Coelho n.º 20 — Animal Chinchila.

No exame "post-mortem" foi comprovada como "causa mortis", Hepatoma maligno com metástase pulmonares.

Histopatologia: O tumor é constituído de células que lembram os hepatócitos; dispõem-se em cordões ou ilhotas, não sendo raras entretanto as figuras de anaplasia e a presença de células verdadeiramente monstruosas, de núcleos bizarros. Sinais de degeneração hidrópica e de necrobiose são evidentes em algumas células tumorais. Em alguns pontos o tumor é envolto por cápsula con-

juntiva e em outros por células hepáticas atrofiadas havendo ao redor do tumor, vasos com sinais evidentes de ectasia; as células hepáticas circunvizinhas ao tumor mostram-se hipertrofiadas, de contôrno poliédrico e sem grandes alterações nucleares (elementos em "célula vegetal").

As metástases pulmonares reproduzem o tumor primitivo.

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular malígno com metástases pulmonares.

Coelho n.º 21 — Animal Azul de Viena.

Massas tumorais múltiplas de côr amarela que atingiam até o volume de uma tangerina, difusas pelo fígado, que se mostrava hipertrofiado.

Disseminação metastática, comprometendo ambos os pulmões, atingindo os focos metastáticos o diâmetro aproximado de grão de feijão. (Fotografia 7).

Histopatologia: O tumor se apresenta sob a forma de nódulos arredondados, múltiplos, com: a) porções em que a anaplasia é escassa, sendo mesmo o tecido blastomatoso pobremente distingüível do tecido hepático normal, ocorrendo em tais áreas entretanto uma ou outra célula gigante de núcleo bizarro; b) porções de anaplasia acentuadíssima em que o polimorfismo celular é extraordinário.

As metástases pulmonares repetem a morfologia do tumor primitivo do fígado.

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular malígno com metástases pulmonares.

Coelho n.º 22 — Animal Vermelho Nova Zelândia.

Um nódulo tumoral isolado, redondo com cêrca de 4 cm de diâmetro foi observado no lobo de SPIGEL. (Fotografia 8).

Histopatologia: O tumor tem neste caso muito reduzida anaplasia; êle é constituído de cordões celulares que convergem para vasos, tal como as traves hepáticas; em alguns pontos contudo estas células se dispõem em pequenas massas comparáveis a ilhotas; as células que constituem o tumor são relativamente volumosas, poligonais, de citoplasma acidófilo e com gotículas com as características das observadas pela deposição de gordura.

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular sem anaplasia.

Coelho n.º 23 — Animal Azul de Viena.

Animal necrospsiado com um diagnóstico de Hepatoma malígno com metástases pulmonares, no exame "post-mortem".

Histopatologia — Nódulos tumorais volumosos que estão separados do parênquima hepático por delgada membrana conjuntiva; as células blastomatosas se dispõem em cordões com uma ou outra célula destacada dos mesmos; o citoplasma celular é freqüentemente acidófilo e os núcleos variam bastante de forma e diâmetro não sendo raras as células com núcleos múltiplos. Muitas células exibem inclusões intranucleares e basófilas que determinam a marginação da cromatina nuclear.

As metástases pulmonares reproduzem o tumor primitivo, não se observando no entanto as inclusões intranucleares.

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular malígno com metástases pulmonares.

Coelho n.º 24 — Animal Branco Nova Zelândia.

À necropsia foram observadas massas tumorais e nódulos idênticos, disseminados difusamente pelo fígado; metástases no baço, no ovário esquerdo, em ambos os pulmões e nos rins (Fotografia 9).

Histopatologia: O tumor é constituído de células que lembram muito o tecido hepático normal, faltando aqui apenas a lobulação característica dêste órgão; os cordões celulares em muitos campos microscópicos envolvem lacunas que se mostram cheias de material ligeiramente acidófilo, comparável ao líquido de

edema. A transição do tumor para o parênquima hepático é discreta, havendo nos limites dos 2 tecidos uma falsa cápsula formada de traves hepáticas comprimidas.

Os nódulos metastáticos pulmonares reproduzem o tumor hepático.

As metástases esplênicas e ovarianas mostram elevado grau de anaplasia.

As metástases renais assumem a forma de êmbolos tumorais, que se mostram retidos em capilares glomerulares.

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular malígno com metástases pulmonares, esplênicas e ovarianas.

Coelho n.º 25 — Animal Chinchila.

O cadáver dêste animal mostrava já a inspeção externa, massa abdominal proeminente do tamanho de uma tangerina, localizada na região epigástrica. À necropsia, tumor hepático de aspecto lobulado, de côr amarela, do tamanho de uma tangerina e ligeiramente proeminente à superfície do fígado (Fotografia 10).

Histopatologia: O tumor é constituído de cordões celulares que lembram as traves hepáticas, sendo contudo um pouco irregulares em seu aspecto; mostram os elementos celulares um citoplasma nìtidamente acidófilo, um núcleo relativamente pequeno e pobre em cromatina; de permeio, células bizarras, com núcleos monstruosos as quais em determinados campos são particularmente numerosas. Trombos fibrinosos são observados em vasos do seio do tumor.

São observadas lesões de hepatite intersticial nas áreas do fígado não invadidas pelo tumor.

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular com anaplasia.

Coelho n.º 26 — Animal Branco Nova Zelândia.

Já no cadáver, palpava-se massa de consistência dura situada no abdomem, à altura da região epigástrica.

À necropsia, nódulos tumorais múltiplos, de diâmetros variáveis disseminados pelo fígado; um lobo hepático, inteiramente livre de aderências foi encontrado na cavidade peritoneal. Nódulos metastáticos múltiplos de ambos os pulmões.

Histopatologia: O tumor hepático é de caráter nodular e não encapsulado, sendo constituído de ilhotas celulares que se dispõem em maciços; as figuras de anaplasia são constantes e do mesmo modo, células gigantes de núcleos bizarros.

As metástases pulmonares reproduzem o tumor hepático.

Na metástase epiplóica as figuras de anaplasia são mais escassas que no fígado, ocorrendo nas células inclusões intranucleares basófilas.

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular malígno com metástases pulmonares, ovarianas, renais e epiplóicas.

Coelho n.º 27 — Animal Branco Nova Zelândia.

À necropsia nódulo tumoral amarelado, do tamanho de uma tangerina, localizado no lobo de Spigel (Fotografia 11).

Histopatologia: Tumor formado de cordões ou ilhotas celulares que convergem para vasos, tal como o centro do lóbulo hepático; as células tumorais são providas de citoplasma amplo e ligeiramente basófilo e mal delimitado das células vizinhas; os núcleos são relativamente pobres em cromatina. De permeio, células bizarras com núcleos múltiplos ou monstruosos.

Nas áreas do fígado não invadidas pelo tumor, percebem-se sinais de esclerose ao redor de canais biliares.

Diagnóstico: — Hepatoma hepatocelular com pequeno grau de anaplasia.

Coelho n.º 28 — Animal fêmea, Branco Nova Zelândia.

Sob o ponto de vista anatomopatológico, êste tumor era semelhante ao observado no animal anterior (Fotografia 12).

Histopatologia: O tumor é constituído de cordões celulares espessos, formados de 2 ou 3 camadas de células; estas têm um núcleo muito pobre em cromatina e um citoplasma relativamente amplo e ligeiramente basófilo.

Em algumas áreas o tumor mostra-se invadido por um tecido conjuntivo hialino muito pobre em células que dissocia os elementos tumorais. Em alguns campos a neoplasia lembra bastante a porção central do lóbulo hepático, com cordões celulares se irradiando de vaso central.

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular não anaplásico.

Coelho n.º 29 — Animal Branco Nova Zelândia.

À necropsia nódulo tumoral de côr amarelo parda que ocupava aproximadamente 3-4 da superfície hepática (Fotografia 13). Ausência de metástases.

Histopatologia: O tumor é formado de cordões celulares ora finos e constituídos de uma simples camada de células ora mais espessos e formados de 2 ou mais camadas; os núcleos são pobres em cromatina e com certa variação de diâmetro e forma; o nucléolo é pequeno; o citoplasma é amplo, ligeiramente acidófilo e de limites imprecisos; são abundantes as células bizarras de núcleos monstruosos; êstes elementos são variáveis na forma e atingem tamanhos consideráveis.

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular com anaplasia.

Coelho n.º 30 — Animal Azul de Viena.

O animal foi trazido vivo, percebendo-se à palpação do fígado hipertrofia do mesmo e a presença de numerosos nódulos em sua superfície.

À necrópsia, nódulos tumorais múltiplos do fígado.

Histopatologia: O tumor reproduz bem o aspecto trabecular do fígado sendo em alguns pontos entretanto constituído de maciços celulares; os núcleos são relativamente pequenos e pobres em cromatina e com nucléolo muitas vêzes ausente; em alguns núcleos há inclusões basófilas que ora se mostram arredondadas ora em forma de halteres; o citoplasma é volumoso e nìtidamente acidófilo. São presentes células bizarras de porte gigante, com núcleos volumosos, ora simples ora duplos.

Não há uma delimitação precisa entre o tecido tumoral e o hepático, mostrando êste último numerosas unidades com aspecto de "célula vegetal".

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular com pequeno grau de anaplasia.

Coelho n.º 31 — Animal Branco Nova Zelândia.

Animal necropsiado, tendo-se firmado como "causa mortis" Hepatoma com metástases pulmonares.

Histopatologia: Tumor constituído de células que lembram hepatócitos e que se agrupam em massas irregulares; estas células têm núcleos proporcionalmente pequenos e pobres em cromatina; o citoplasma é acidófilo; não são raras contudo as células com núcleos hipercromáticos bem como os elementos bizarros idênticos aos descritos em outros casos.

Na metástase pulmonar o tumor primitivo é reproduzido com fidelidade; aqui inclusões intranucleares idênticas às vistas em outros casos, aparecem.

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular malígno com metástases pulmonares.

Coelho n.º 32 — Animal Branco Nova Zelândia.

À necropsia massa tumoral do fígado do tamanho de uma tangerina, de côr amarela e de consistência firme; um segundo nódulo com cêrca de meio cm de diâmetro é observado no parênquima dêste órgão. Raríssimos nódulos metastáticos nos pulmões medindo cada um cêrca de meio cm de diâmetro; são brancos e subpleurais.

Histopatologia: Embora êste tumor tenha determinado a formação de metástases nos pulmões, êle tem poucos sinais de anaplasia sendo constituído sobretudo de cordões celulares, cujos núcleos são pobres em cromatina e pequenos; o citoplasma das células é ligeiramente acidófilo; em um ou outro ponto, as células tumorais se dispõem em ácinos.

As metástases pulmonares reproduzem fielmente o tumor primitivo.

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular malígno, com metástases pulmonares.

Coelho n.º 33 — Animal de raça não especificada.

Consta como "causa mortis" Hepatoma maligno com metástases pulmonares (Fotografia 14).

Histopatologia: Tumor formado de células que lembram hepatócitos e que se dispõem em cordões e mais raramente em ácinos; os núcleos são pobres em cromatina e o citoplasma é amplo e acidófilo; células bizarras idênticas às vistas em outros casos, aqui aparecem em diferentes campos microscópicos.

Nas metástases pulmonares há reprodução das imagens vistas no fígado.

Diagnóstico: Hepatoma hepatocelular malígno.

Coelho n.º 34 — Animal de raça não especificada.

Morto por Hepatoma generalizado.

Não foram feitos exames histopatológicos pela má conservação do cadáver.

Coelho n.º 35 — Animal de raça não especificada.

Morto por Hepatoma generalizado.

Não foram feitos exames histopatológicos pela má conservação do cadáver.

Da leitura dêstes protocolos, 3 peculiaridades são dignas de realce: do ponto de vista histopatológico a não observação de mitoses nas células blastomatosas, do ponto de vista anátomo-clínico a ausência de icterícia nos animais portadores do tumor e do ponto de vista anátomo-patológico a quase total ausência de metástases ganglionares (uma única observação).

IV. DISCUSSÃO

Em relação à espécie humana, os seguintes fatores são incriminados como causativos ("causative factors") do carcinoma hepático, seg. Willis[30]: a) *Cirrose.* Conforme as observações de Stewart[26], 89% de 246 casos de carcinomas hepatocelulares estavam associados com cirrose hepática e 51% de 49 casos de carcinomas colangiocelulares se associavam com idêntica lesão prévia. Dados mais extensos sôbre o desenvolvimento de cânceres em fígados cirróticos estão mencionados por Berman[3] que afirma estar presente invariàvelmente uma cirrose multilobular nos casos de carcinomas hepáticos observados em negros da raça Bantu. Do mesmo modo Bonne[4] verificou que aproximadamente todos os carcinomas hepatocelulares por êle observados em javaneses ocorriam em fígados cirróticos.

A êste assunto Gall[16] reportou-se recentemente, tendo verificado 682 casos de cirrose hepática no período de 1921 a 1958, em 58 dos quais incidiram neoplasias no fígado (8,5%). O carcinoma hepatocelular (hepato ou colângiocelular)

foi observado ter uma predileção particular para a cirrose post hepática e post necrótica (13 a 20%), porém mostrou ser extremamente raro após as cirroses nutritivas (1%).

Nas nossas observações o fator cirrose anterior deve ser totalmente eliminado como um eventual responsável pela incidência das neoplasias hepáticas. A cirrose hepática não foi observada em nenhum dos animais necropsiados rotineiramente durante o período de nossas observações e mortos por outras causas, que não a neoplasia hepática. Uma melhor comprovação dêste fato era obtida através a leitura dos cortes histológicos das áreas do fígado não invadidas pelo tumor por nós observado, faltando sempre nestes casos as alterações escleróticas do órgão. b) *Hemocromatose* — Trata-se de uma condição patológica do homem em que um pigmento com as características da hemosiderina se deposita no fígado e em outros órgãos com uma conseqüente cirrose daquele por uma ação irritativa do pigmento; nesta forma de cirrose denominada pigmentar o desenvolvimento de neoplasias no fígado não é raro; estatísticas dão números que chegam a até 10%, quanto à incidência de carcinomas em fígados com hemocromatose (Stewart) (bib. cit.).

Nos animais domésticos uma condição patológica idêntica à hemocromatose do homem não existe, ocorrendo apenas extensas pigmentações por hemosiderina no fígado de cavalos com anemia infecciosa e no de bovinos com deficiência de cobre e cobalto (Smith e Jones) [25], pelas razões acima e por não têrmos observado deposições pigmentares no fígado dos animais mortos por outras afecções e pela neoplasia em estudos, êste fator deve ser totalmente eliminado como eventual responsável pela incidência dos blastomas por nós observados. c) *Doenças parasitárias do fígado* — A partir dos trabalhos de Bullock e Curtis [5], ficou bem comprovado o papel do Cysticercus fasciolaris na gênese de certos sarcomas hepáticos em ratos. Êstes autores obtiveram em 1 400 ratos infestados com ovos de cestódeo (*Taenia crassicollis*), tumores simples ou múltiplos que se desenvolviam na cápsula que cerca o parasito. No homem o problema foi revisto por Stewart (bib. cit.) Berman (bib. cit.) e Hueper [17] que colecionaram casos de carcinomas hepáticos associados com distomatose, schistomatose e hidatidose. Acha Willis (bib. cit.) contudo que a concomitância do câncer hepático com estas duas últimas parasitoses seja apenas fortuita o mesmo talvez não ocorrendo em relação à primeira, cuja correlação com neoplasia do fígado merece melhores estudos. Sabemos da freqüência com que uma forma de eimeriose parasita e lesa gravemente os canais biliares do coelho (Eimeria stiedae) e reconhecemos que tal parasitismo poderia ser incriminado como eventual fator predisponente ao aparecimento de blastomas hepáticos neste animal; entretanto na revisão bibliográfica que fizemos do assunto, verificamos a excepcionalidade dos cânceres hepáticos em coelhos (3 casos na literatura mundial); mas um dado que nos pareceu entretanto mais expressivo é o fato desta parasitose jamais ter sido por nós observada na criação onde realizamos nossos estudos. d) *Compostos azóicos* — Uma eletividade dos compostos azóicos para o fígado, determinando neste órgão o desencadeamento de tumores foi observada por Schmidt [24] e confirmada por Yohida [31] e outros pesquisadores japonêses que demonstraram ser o aminoazotolueno, uma substância usada na indústria como corante de couros, um importante agente de adenomas e carcinomas do fígado de ratos e comundongos, quando administrada oralmente ou por injeção. Em 1937, Kinosita [18] demonstrou que uma das substâncias do grupo o Dimetilaminoazobenzeno, corante denominado vulgarmente "butter yellow", era muito mais ativo na formação de neoplasias no fígado.

Mais recentemente, os trabalhos de Farber [12] indicam que através a administração de etionina a ratos é possível a obtenção de neoplasias malignas nestes animais, as quais davam origem a metástases.

As possibilidades de substâncias químicas, particularmente do grupo azóico intervirem na gênese dos tumores por nós estudados, parecem-nos muito remotas e só em condições excepcionais, substâncias tóxicas como inseticidas eram usadas no combate a mosquitos, nesta criação.

De outro lado, quadros anátomo-patológicos compatíveis com um diagnóstico de intoxicação, foram excepcionais durante os nossos trabalhos de necropsias de animais mortos por outras afecções.

Em virtude de 1.º) *a não ocorrência daqueles fatores causativos* do Câncer hepático, em nossas observações, 2.º *a elevada incidência na neoplasia* (constituindo 29% da causa da morte de todos os coelhos adultos, que eram mantidos em uma pequena área e cuidados pelos mesmos tratadores), 3.º) *a ocorrência do tumor entre 4 raças diferentes de coelhos* (Branco de Nova Zelândia, Azul de Viena, Chinchila e Vermelho de Nova Zelândia), permitindo que se afaste um pouco a hipótese de um fator genético ser responsabilizado pela etiologia das neoplasias e 4.º) *a presença de formações comparáveis a inclusões intranucleares nas células neoplásicas* de nosso material, somos levados a pensar que um vírus intervenha na etiologia dêste hepatoma. Sabemos hoje que algumas afecções de caráter neoplásico são comprovadamente produzidas por vírus filtráveis. São elas entre os mamíferos, dois tumores do próprio coelho (Fibroma e papiloma de Shope), o carcinoma mamário da camundonga (fator leite de Bittner), a leucemia dos camundongos (Gross), certos papilomas de mamíferos e, finalmente tumores primários múltiplos obtidos em camundongos recém-nascidos, com a inoculação do vírus do Polioma SE.

Julgamos corroborar razoàvelmente o nosso ponto de vista, o fato de aparecerem com freqüência formações comparáveis a inclusões de viroses nos núcleos das células neoplásicas por nós estudadas. Não devemos deixar de ressaltar contudo que tais formações se mostravam negativas ao Feulgen, o que é raro nas inclusões determinadas por infecções por vírus filtráveis mas o que é freqüente entretanto no corpúsculo de Negri, como asinalam Thompson e col. [28] e Rivers [20].

V. RESUMO

Durante os trabalhos de necropsias de 120 coelhos adultos procedentes de u'a mesma criação, o autor observou de abril de 1958 a setembro de 1961, 35 casos de hepatoma que foram responsáveis pela morte dos animais portadores (29%).

Em 16 vêzes o tumor ocorreu em animais da raça Branco Nova Zelândia, em 12 nos da raça Azul de Viena, em 3 em animais da raça Chinchila, em 1 em representante da raça Vermelho de Nova Zelândia; em 3 a raça não estava especificada. O tumor não foi observado entre coelhos da raça Castor Rex (6 necropsiados) e Negro Fogo (2 necropsiados).

Em 25 vêzes o tumor ocorreu em fêmeas, em 4, em machos e em 6 o sexo não estava especificado.

Em 25 vêzes o tumor mostrava manifestações metastáticas e em 10 êle se restringia ao fígado.

As metástases se assestavam com mais freqüência nos pulmões, 25 vêzes.

Os casos que foram estudados histològicamente foram classificados todos como hepatomas hepatocelulares com exceção de 3, dos quais 2 rubricados como hepatomas mistos (hepato e colangiocelulares), e 1 como hepatoma colangiocelular.

Corpúsculos comparáveis às inclusões produzidas por infecção por vírus foram observados nos núcleos das células blastomatosas em 10 diferentes casos (28%); tais corpúsculos se mostravam freqüentemente negativos ao Feulgen e eram ora acidófilos ora basófilos.

Em virtude *da não ocorrência dos fatores causativos do câncer hepático, da elevada incidência do tumor, da ocorrência do mesmo em 4 diferentes raças e da presença nos núcleos das células blastomatosas, de formações comparáveis à inclusões por infecção por vírus,* julga o autor que o presente tumor possa ser determinado por um vírus filtrável.

VI. AGRADECIMENTOS

Consignamos aqui os nossos agradecimentos aos seguintes colegas e técnicos que conosco colaboraram na realização dêste trabalho: Prof. Dr. Paulo Dacorso Filho, Catedrático da Escola Nacional de Veterinária, Dr. Parnaso Magalhães Medeiros, então veterinário do S.F.P.R.I.A., Dr. Firto Achá Barriga, veterinário do I.Z. e o engenheiro agrônomo Dr. George Frederich Laun do I.Z. que gentilmente nos forneceram alguns espécimes estudados; Drs. José Freire de Faria, Carlos Hubinger Tokarnia, Genio Novloski, Jürgen Döbereiner, todos assistentes da Seção da Anatomia Patológica do Instituto de Biologia Animal, que realizaram numerosas necropsias, tendo o último executado tôdas as fotografias coloridas e microfatografias que ilustram o presente trabalho. Dra. Marita Cunha Rodrigues, atual Chefe da Biblioteca do Instituto de Biologia Animal, que nos forneceu dados bibliográficos a respeito e concatenou as fotografias das peças anatômicas.

Finalmente, são merecedoras de nossa gratidão o Prof. Catedrático da Escola Nacional de Veterinária, Dr. Bruno Alipio Lobo, o seu assistente Dr. Walker André Chagas pela ajuda que nos deram nas observações que fizemos utilizando técnicas de histoquímica e o Dr. Renato Augusto da Silva, Chefe da Seção de Zoonoses por Vírus, do Instituto de Biologia Animal, pelo valioso auxílio que dêle já estamos recebendo no desenvolvimento de investigações no campo da virologia, aplicadas a êste problema.

ON THE OCCURRENCE OF AN ENZOOTIC HEPATOMA IN RABBITS

Abstract

During the post-mortem examinations of 120 grown rabbits, all from the same breeding stock, the author observed from abril 1958 till september 1961, 35 cases of hepatoma, which was the cause of death of these animals.

In 16 cases the tumor occurred in animals of the White New Zealand Breed, in 12 cases in the Blue Viena Breed, in 3 cases in the Chinchila Breed, in 1 case in the Red New Zealand Breed and in 3 cases in animals of not specified Breed. The tumor was not observed in the Castor Rex Breed (6 post-mortem examinations) and in the Black Fire Breed (2 post-mortem examinations).

In 25 cases the tumor was observed in females, in 4 cases in males and in 6 cases the sex was not specified.

In 25 cases the tumor had metastases, and in 10 cases the tumor was limited to the liver. The metastases occurred most frequently in the lungs (25 cases).

The cases which were studied histopatologically, were classified as liver-cell hepatoma, with the exception of 3 of which 2 were named mixed hepatoma liver--cell and cholangio-cell and 1 was named cholangioma.

Inclusion bodies comparable to those produced in infections by virus were observed in the nuclei of blastoma cells in 10 different cases (28%); such inclusion bodies gave negative results to the Feulgen reaction.

The author believes that this tumor may be caused by a filtrable virus, because of the absence of the factors which cause hepatic cancer, because of the high incidence of the tumor, because of the occurrence of this tumor in 4 different breeds, and because of the presence of formations in the nuclei of blastomic cells comparable to the inclusion bodies found in infections by virus.

REFERÊNCIAS

1) ANDERVONT, H.B. & DUNN, T.B. (1952).—Transplantation of Spontaneous and Induced Hepatomas in Inbred Mice. J. Nat'l Cancer Inst., 13: 455.

2) ANDRADE DOS SANTOS, J. (1960).—Curso de Patologia Animal administrado na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (mimeografado).

3) BERMAN, C. (1941).—The Etiology of Primary Carcinoma of the Liver with Special Reference to the Bantu Races of South Africa. S. African J. Med. Sci., 6: 145.

4) BONNE, C., apud Willis, R.A. (1953).—Pathology of Tumours — Second Edition — Butter Worth & Company Ltda., pp. 434.

5) BULLOCK, F.D. & CURTIS, M.R. (1925).—Types of Cysticercus Tumors. Jour. Cancer Res., 9: 425.

6) BURNS, E.L. & SCHENKEN, J.R. (1940).—Spontaneous Primary Hepatoma in Mice of Strain C3H, etc. Am. J. Cancer Inst., 39: 25.

7) CAMPBELL, J.G. (1949).—Spontaneous Hepatocellular and Cholangiocellular Carcionma in the Duck. An Experimental Study, Brit. Jour. Concer, 3: 198.

8) COHRS, P.; JAFÉ, R. & MEESSEN, H. (1958).—Pathologie der Laboratoriumstiere. Tomo II. Ed. Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg, pp. 478.

9) DACORSO FILHO, P. (1943).—Contribuição ao Estudo da Oncologia Comparada. Tese para Concurso da Escola Nacional de Veterinária — Rio de Janeiro.

10) DACORSO FILHO, P.; LANGENEGGER, J. & FARIA, J.F. (1959).—Melanoma maligno generalizado em coelho. An. Col. Anat. Bras. 5: 131-141.

11) DUMAS, J. (1953).—Les Animaux de Laboratoire. Collection de l'Institut Pasteur. Éditions Médicales Flammarion, Paris, pp. 288-290.

12) FARBER, E. (1956).—Carcinoma of the Liver in Rats Fed Ethionine. Arch. Path., 62 (6) : 445-453.

13) FARDEAU, G (1931).—Les tumeurs spontaines chez le lapin. Diss. Paris.

14) FELDMAN, W. (1932).—Neoplasms of Domesticated Animals. W.B. Saunders Company Ed., Philadelphia and London, pp. 71.

15) FOULDS, L., apud WILLIS, R.A. (bib. cit.), pp. 101.

16) GALL, E.A. (1960).—Primary and Metastatic Carcinoma of the Liver. Arch. Path., 70 (2): 226-232.

17) HUEPER, W.C., apud WILLIS, R.A. (bib. cit.), pp. 434.

18) KINOSITA, R., apud WILLIS, R.A. (bib. cit.), pp. 45.

19) LILLIE, R.D. (1952).—Histopathologic Technic. The Blakiston Company, Philadelphia & Toronto, pp. 88-90, 145.

20) RIVERS, T. M. (1952).—Viral and Rickettsial Infection of Mana. Second Edition — J.B. Lippincok Co., Philadelphia, pp. 267-299.

21) ROUS, P. & BEARD, J.W. (1935).—The Progression to Caricinoma of Vírus Induced Rabbit Papillomas. Jour. Exp. Med., 62: 523-548.

22) SHOPE, R.E. (1932).—A Transmissible Tumourlike Condition in Rabitts. Jour. Exp. Med., 56: 793-802.

23) SHOPE, R.E. (1933). —Infectious Papillomatosis of Rabbits. Jour. Exp. Med., 58: 607-624.

24) SCHMIDT, apud Willis, R.A. (bib. cit.), pp. 44.

25) SMITH, H.A & JONES, T.C. (1957).—Veterinary Pathology. Ed. by Lea & Febiger, Philadelphia, U.S.A., pp. 65.

26) STEWART, M.J. (1931).—Precancerous Lesions of Alimentary Tract. Lancet, ii-565.

27) TAMASCHKE, C. (1951/52).—Beiträge zur vergleichenden Onkologie der Haussäugetiere. Wiss. Z. Humboldt Univ., 1: 37-77.

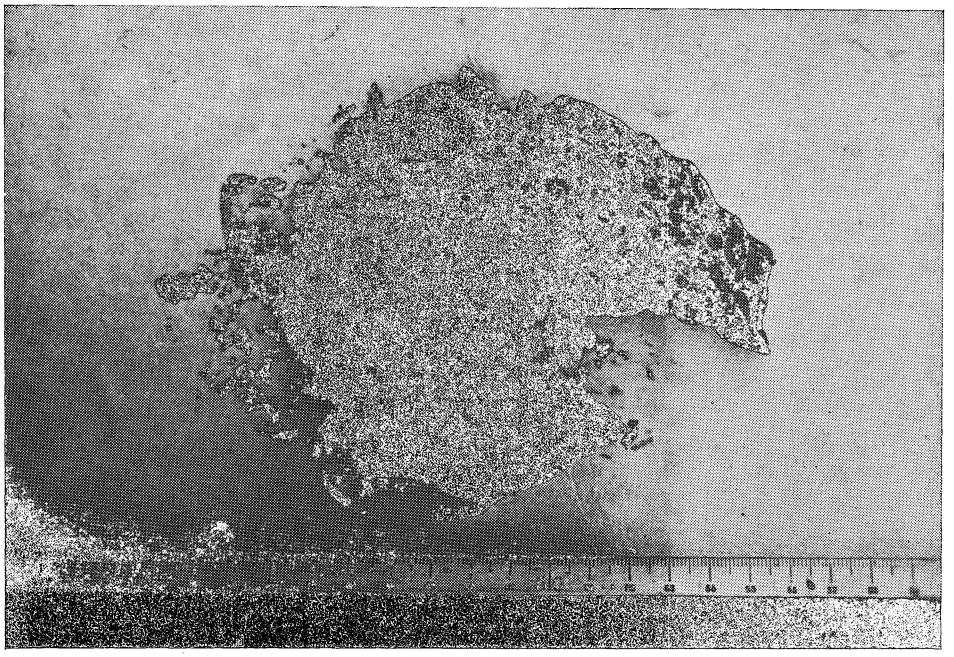
28) THOMPSON, S.W.; DAVIS, C.L.; TURBYFILL, C.L. & THOMASSEM, R.W. (1960).—The Protein Nature of the Matrices of Negri Bodies. Am. J. Vet. Res. 21 (83): 636-643.

29) TOKARNIA, C.H. & DÖBEREINER, J. (1954).—Osteosarcoma em coelho. Bol. Soc. Bras. Med. Vet., Rio de Janeiro, 22: 25-41.

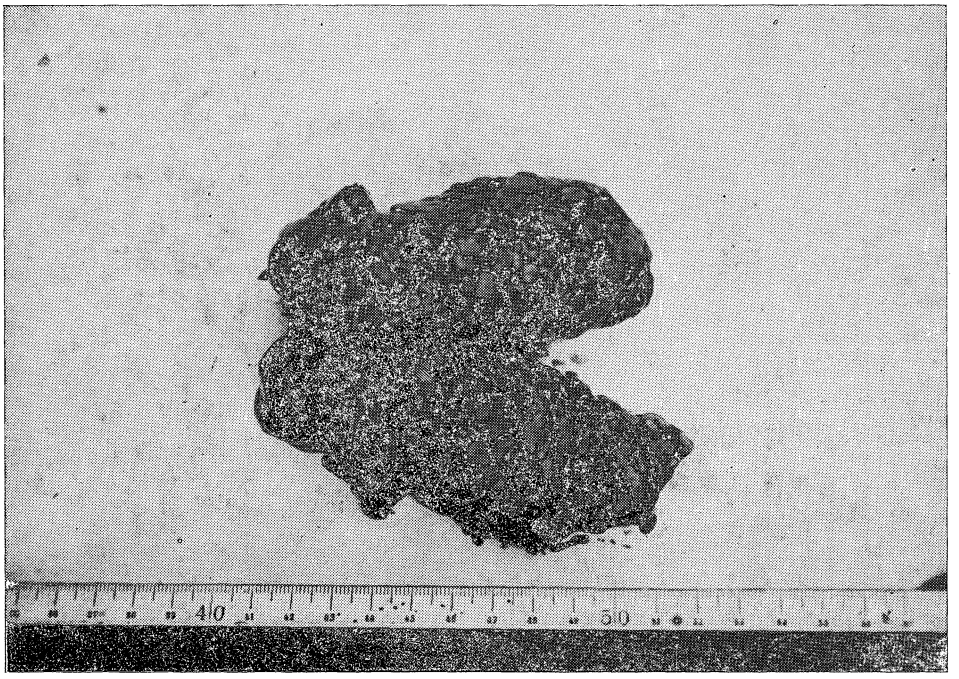
30) WILLIS, R.A. (bib. cit.), pp. 434.

31) YOSHIDA, apud WILLIS, R.A. (bib. cit.), pp. 44.

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 133-167
1961 — Min. Agricultura, Brasil

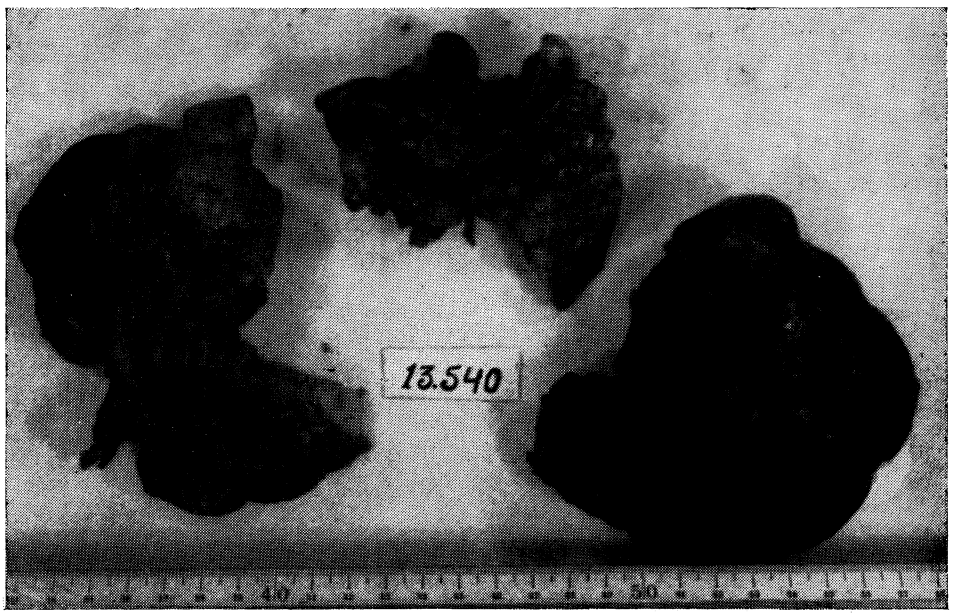


FOTOGRAFIA N.º 1



FOTOGRAFIA N.º 2

FOTOGRAFIA N.º 3



FOTOGRAFIA N.º 4

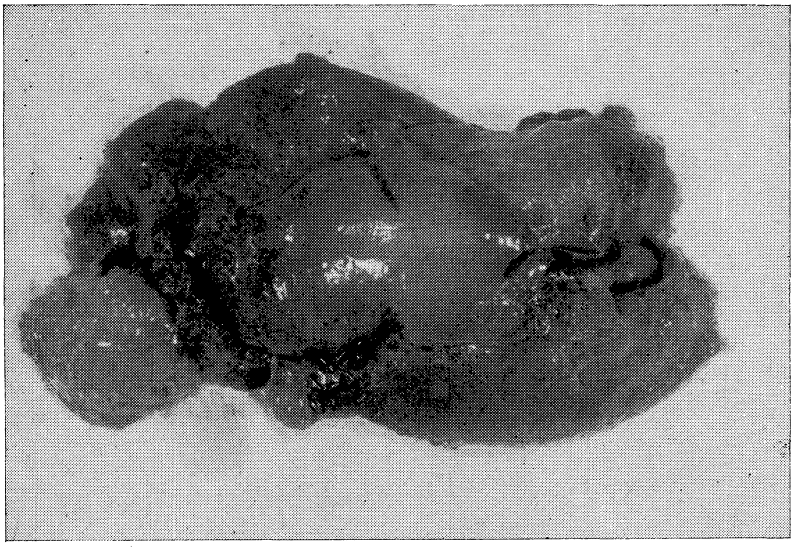
FOTOGRAFIA N.º 5

FOTOGRAFIA N.º 6

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 133-167
1961 — Min. Agricultura, Brasil

FOTOGRAFIA N.º 7

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 133-167
1961 — Min. Agricultura, Brasil

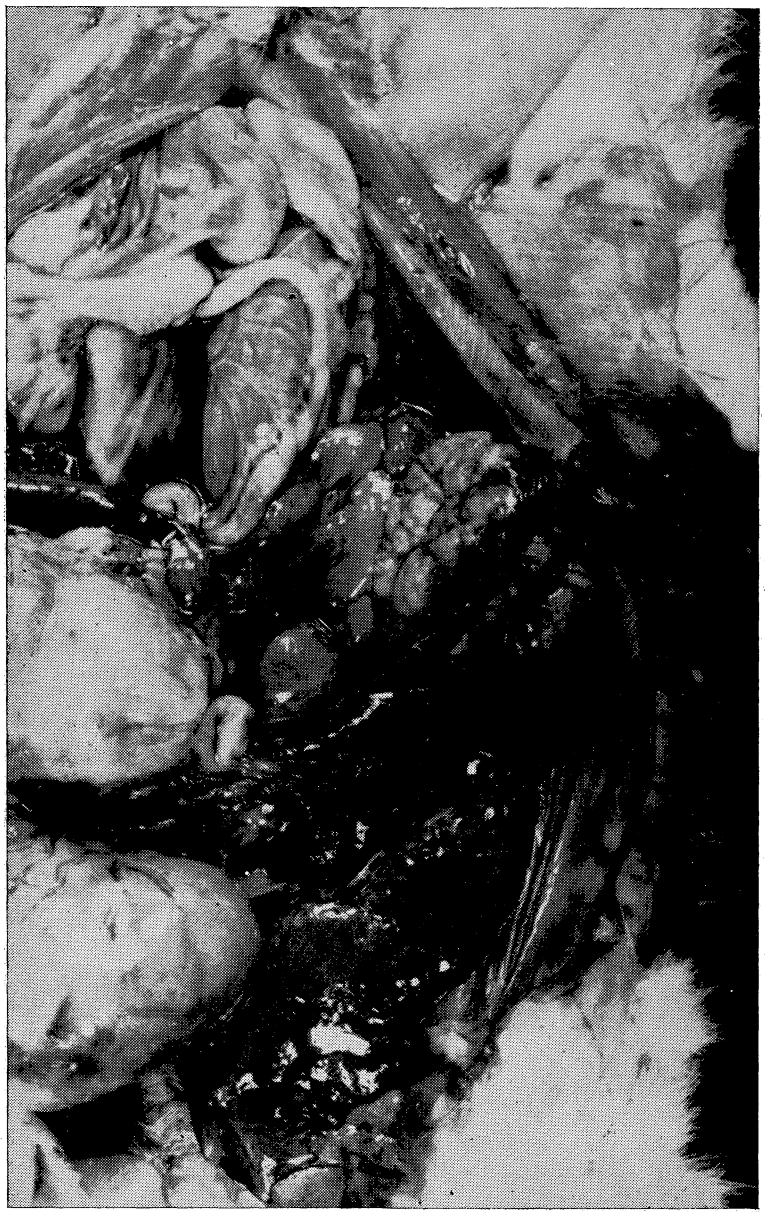


FOTOGRAFIA N.º 8

FOTOGRAFIA N.º 9

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 133-167
1961 — Min. Agricultura, Brasil

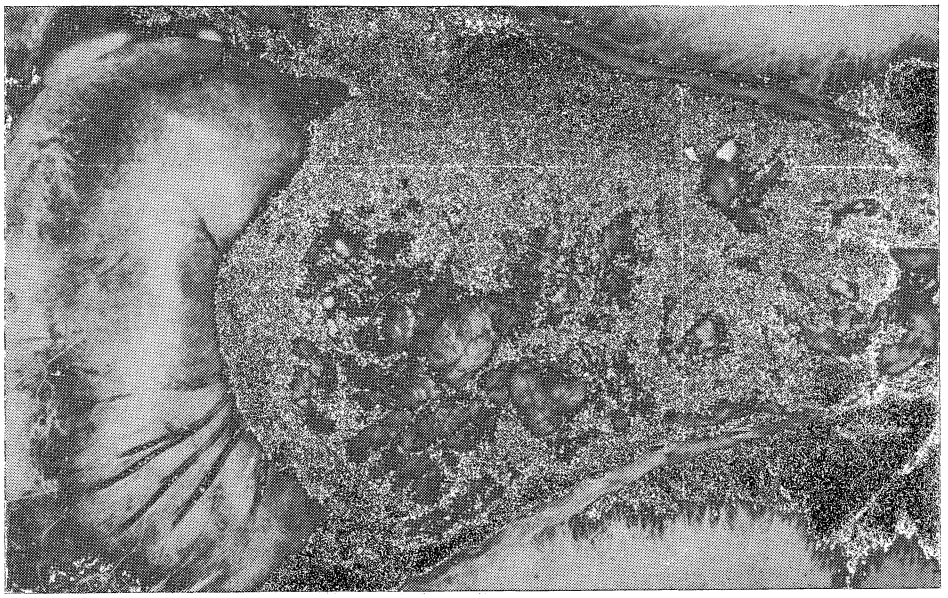
FOTOGRAFIA N.º 10



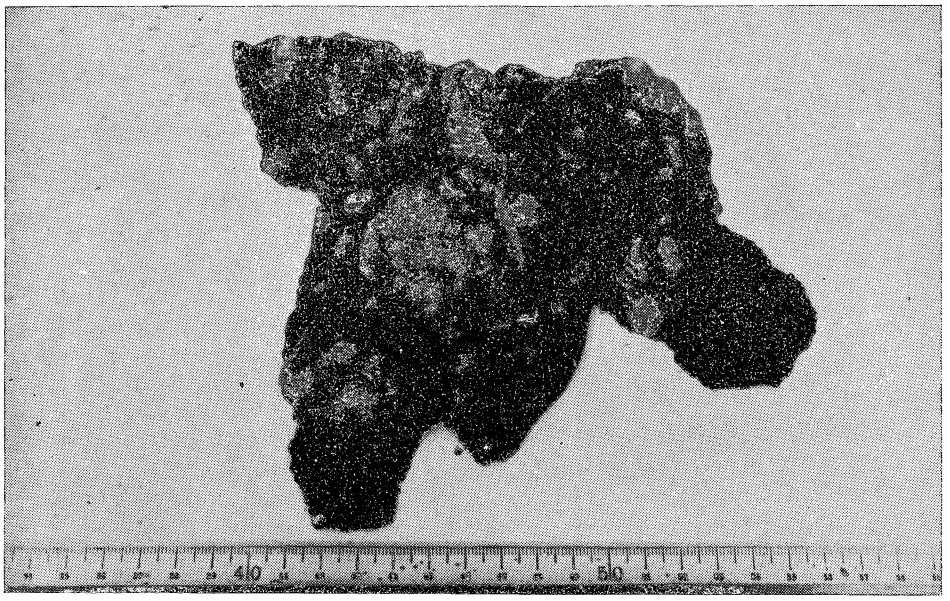
FOTOGRAFIA N.º 11

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 133-167
1961 — Min. Agricultura, Brasil

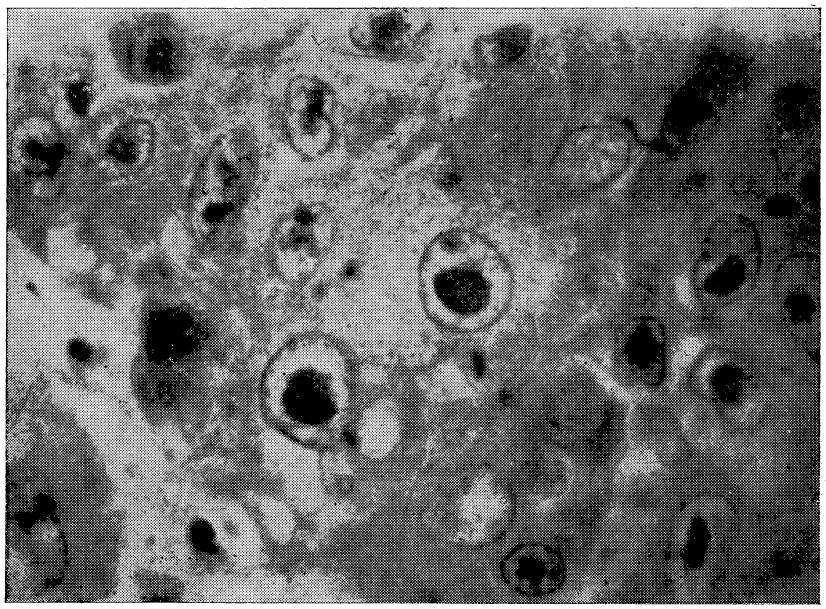
FOTOGRAFIA N.º 12



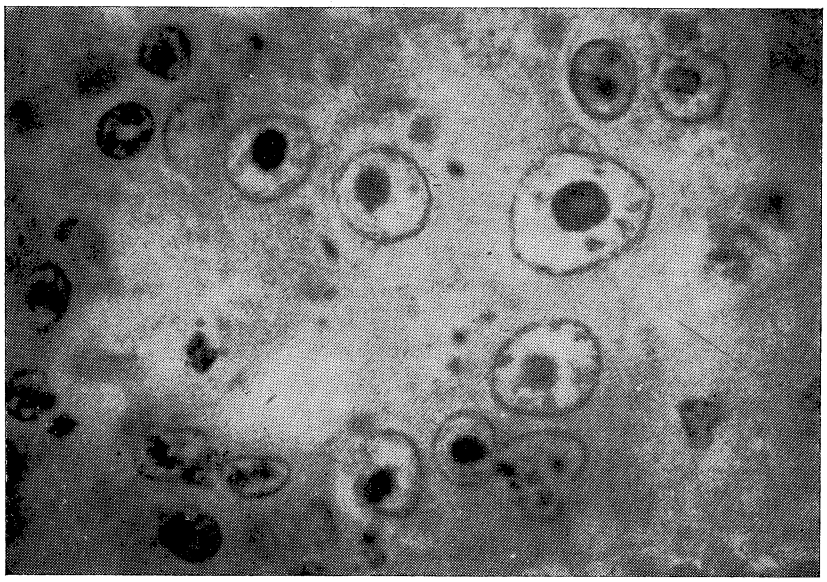
FOTOGRAFIA N.º 13



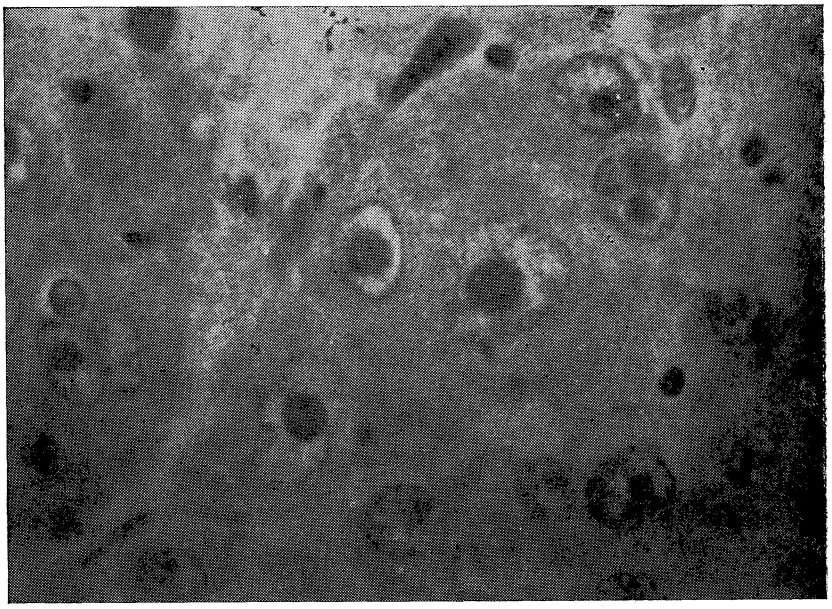
FOTOGRAFIA N.º 14



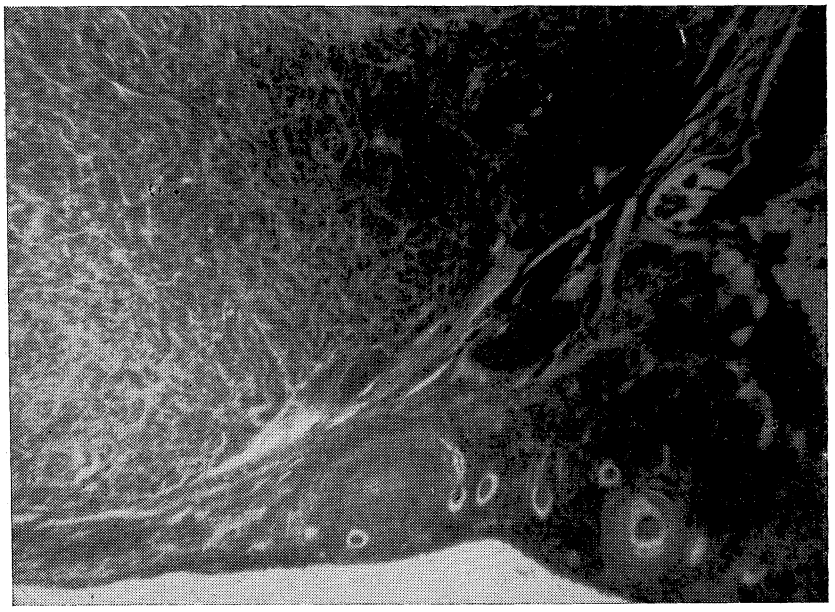
MICROFOTOGRAFIA N.º 1



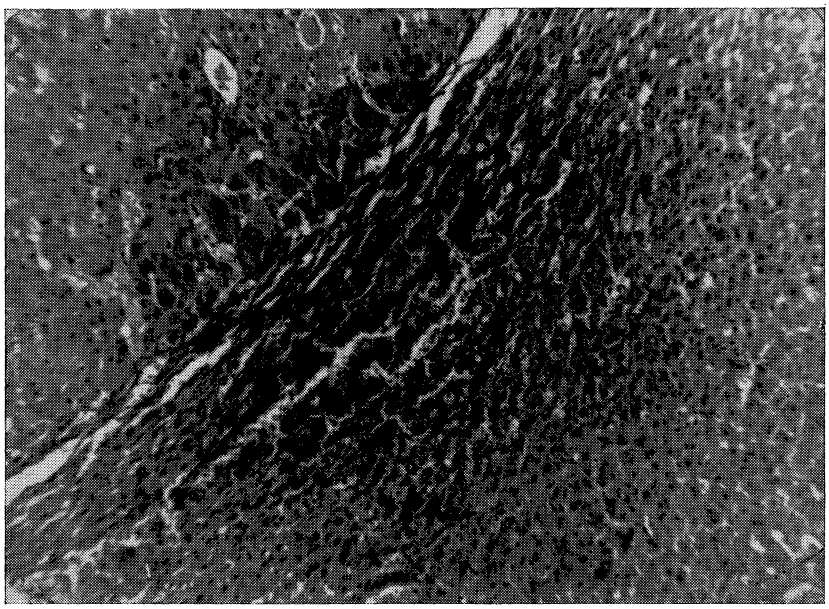
MICROFOTOGRAFIA N.º 2



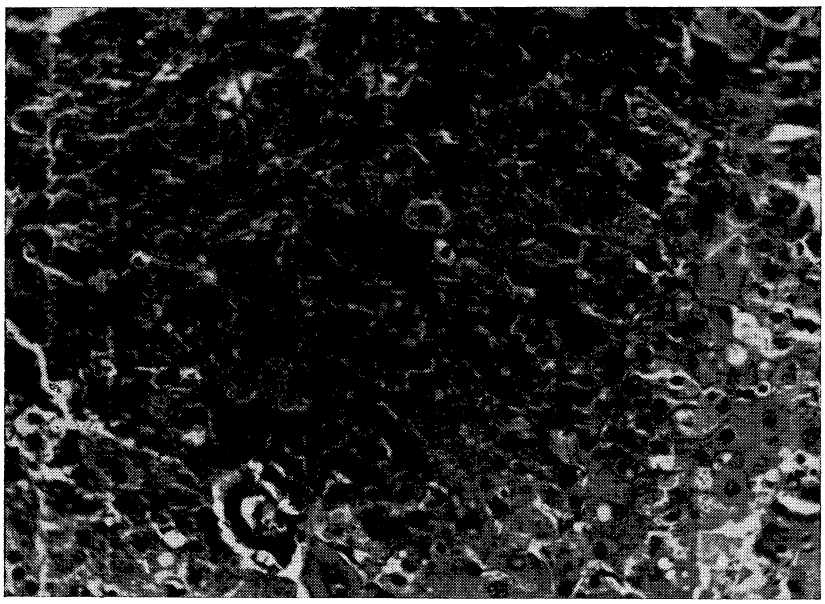
MICROFOTOGRAFIA N.º 3



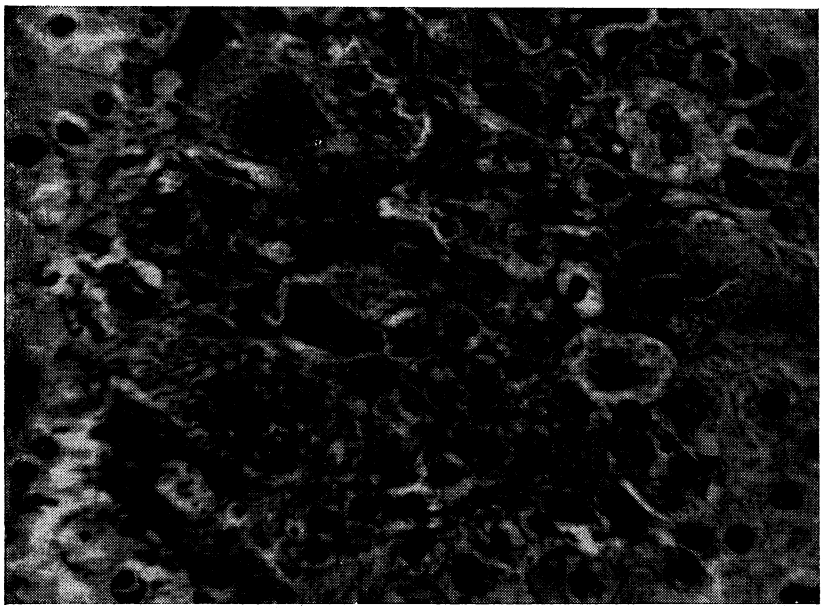
MICROFOTOGRAFIA N.º 4



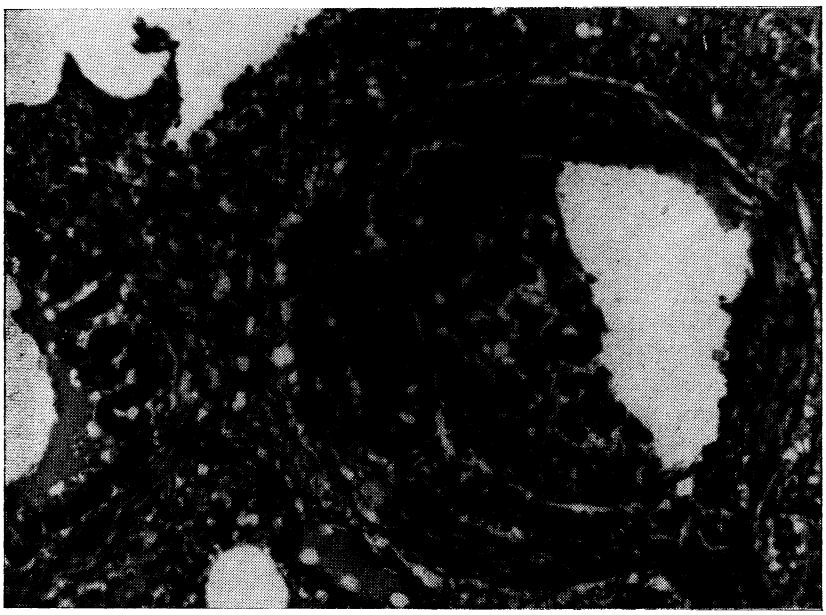
MICROFOTOGRAFIA N.º 5



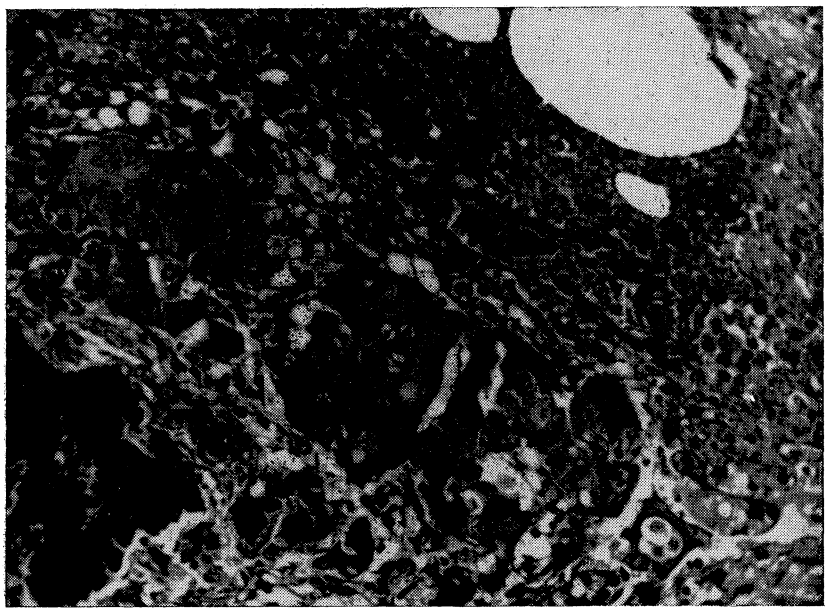
MICROFOTOGRAFIA N.º 6



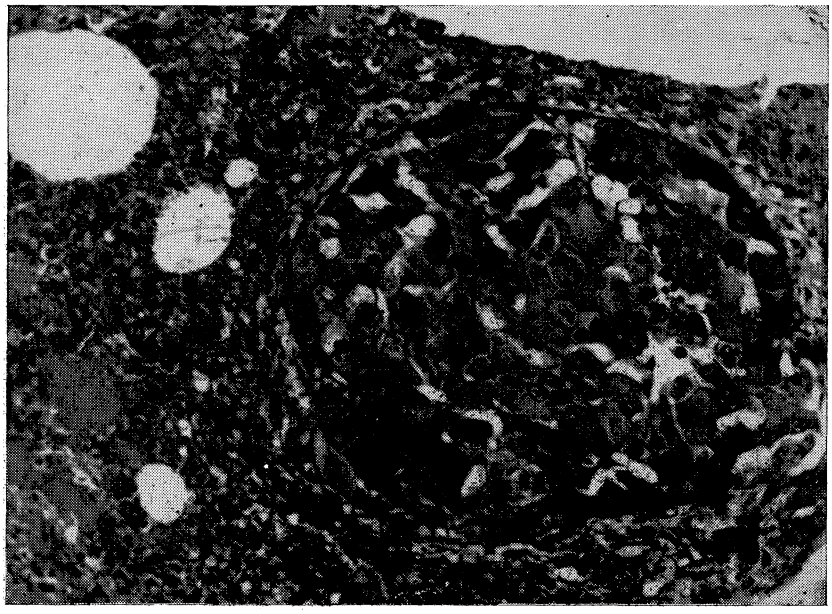
MICROFOTOGRAFIA N.º 7



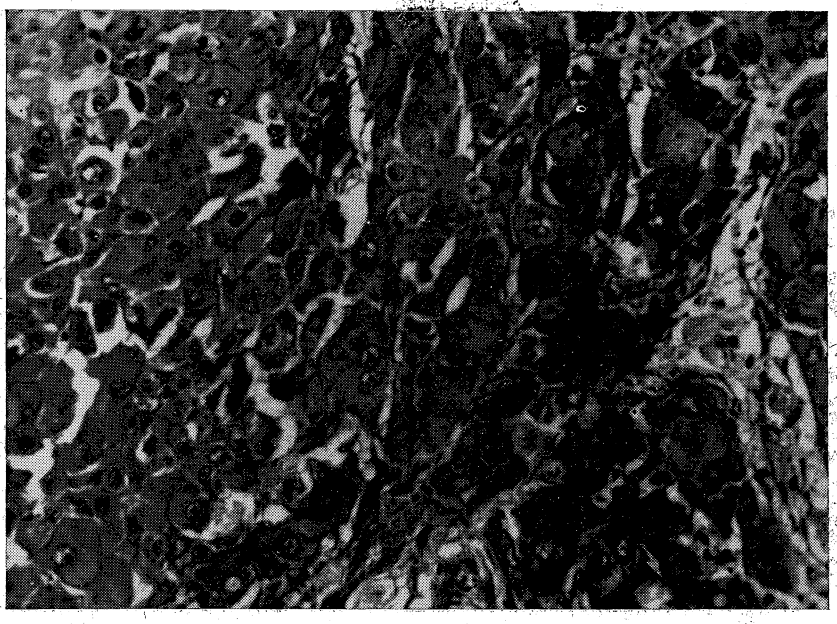
MICROFOTOGRAFIA N.º 8



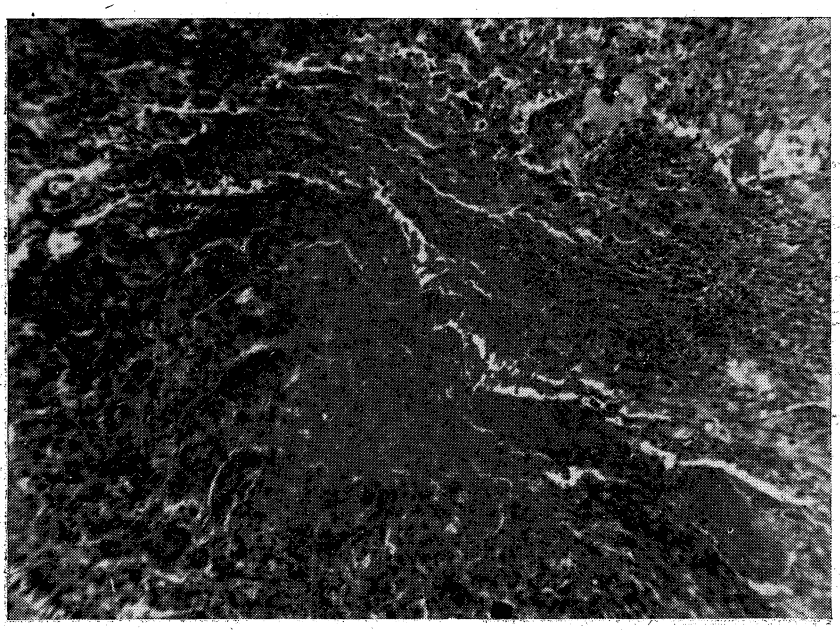
MICROFOTOGRAFIA N.º 9



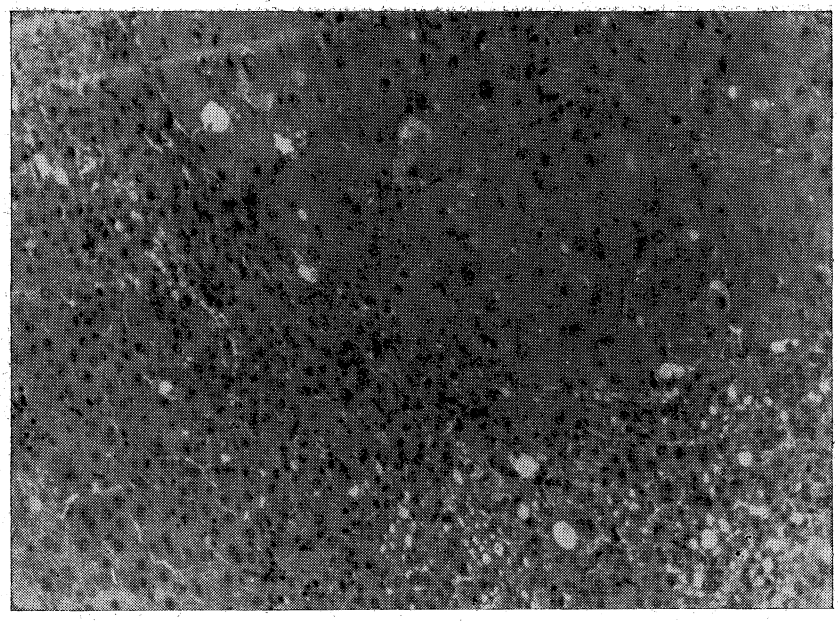
MICROFOTOGRAFIA N.º 10



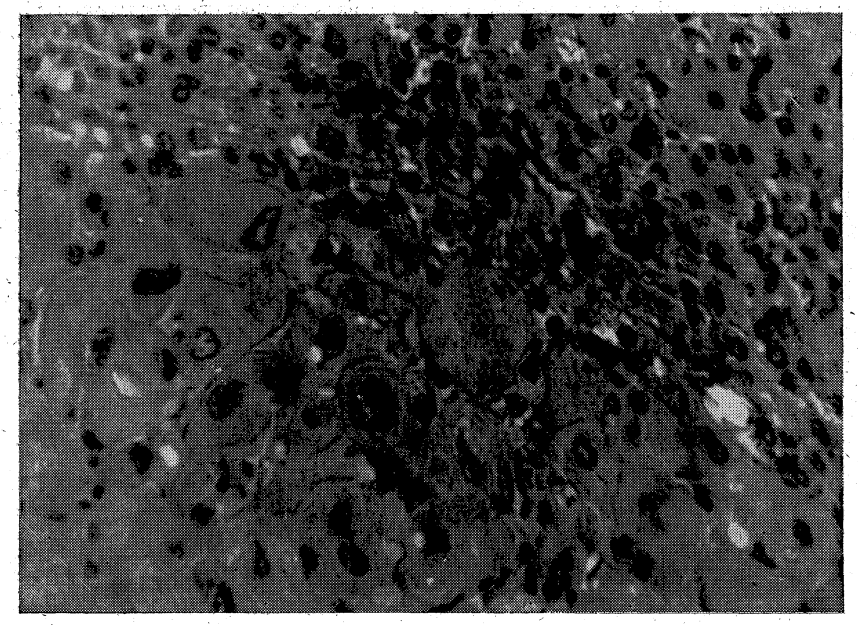
MICROFOTOGRAFIA N.º 11



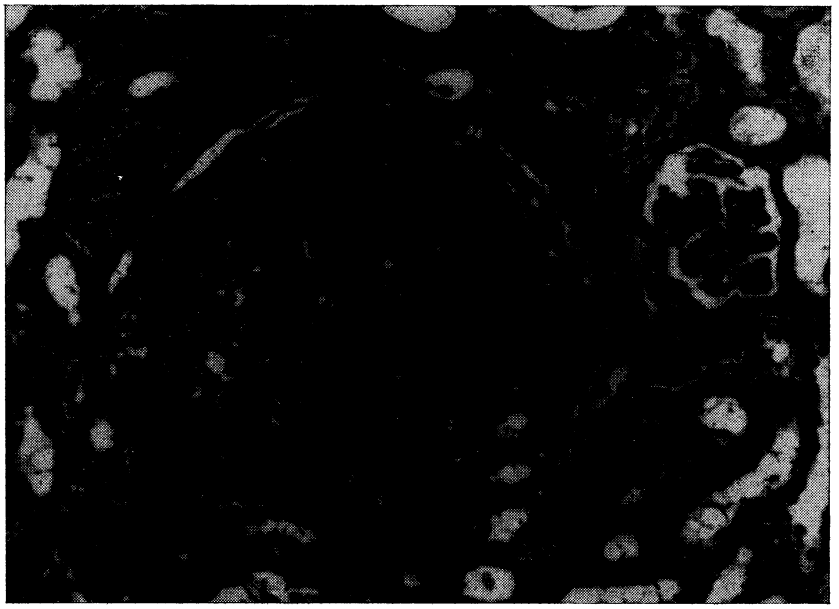
MICROFOTOGRAFIA N.º 12



MICROFOTOGRAFIA N.º 13

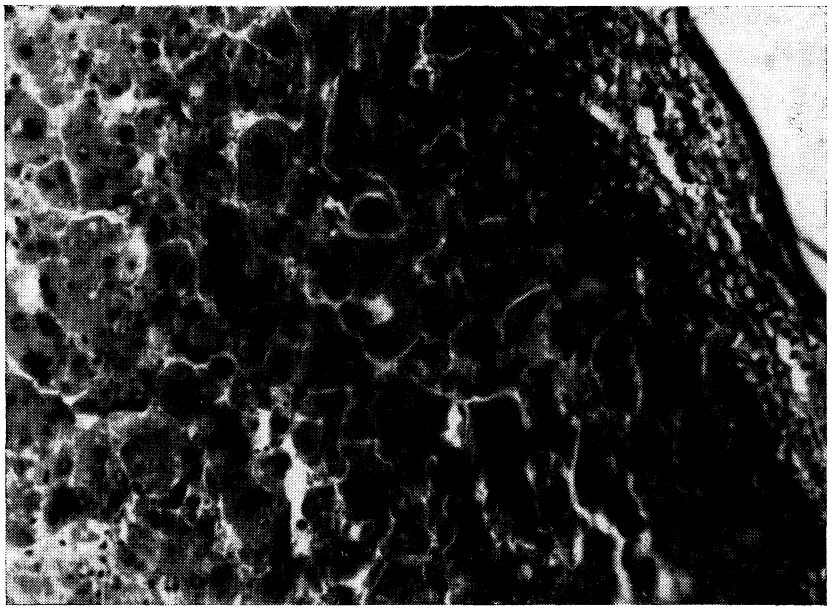


MICROFOTOGRAFIA N.º 14

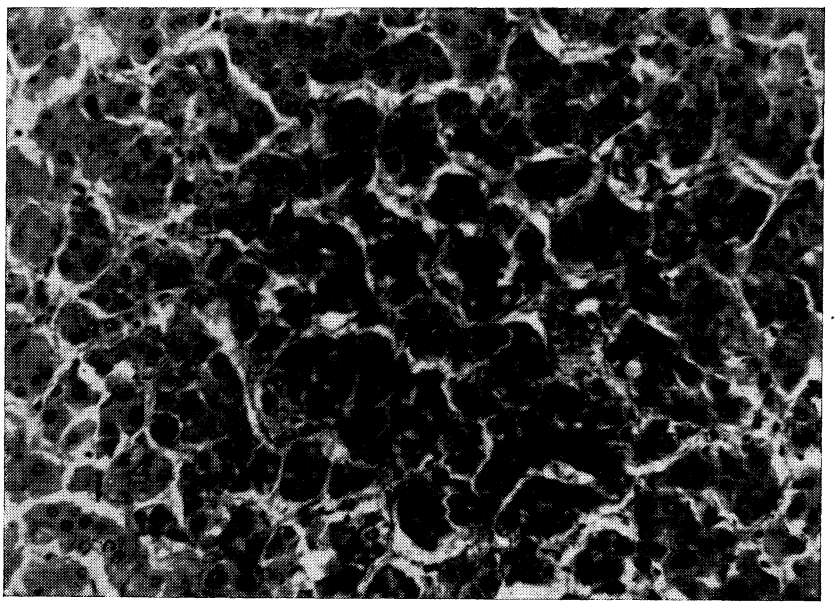


MICROFOTOGRAFIA N.º 15

MICROFOTOGRAFIA N.º 16

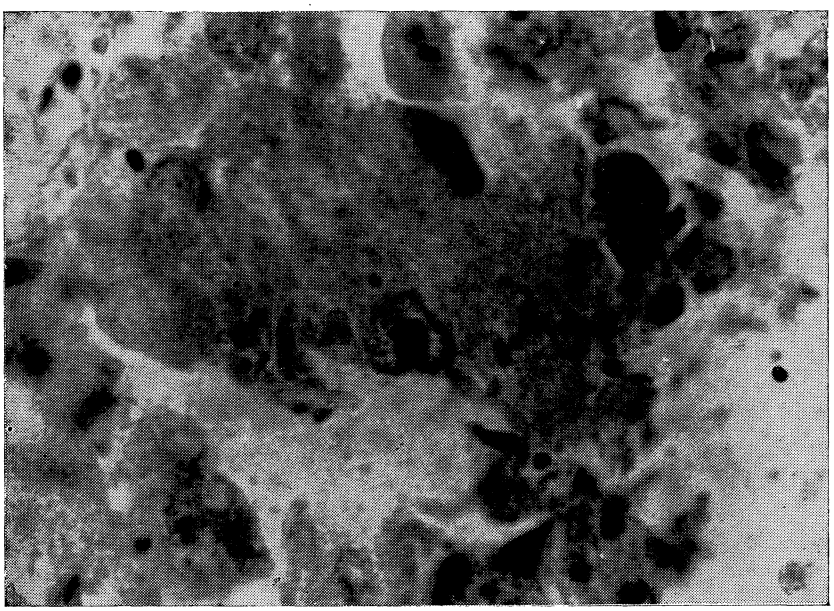


MICROFOTOGRAFIA N.º 17



MICROFOTOGRAFIA N.º 18

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 133-167
1961 — Min. Agricultura, Brasil



MICROFOTOGRAFIA N.º 19

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 169-173
1961 — Min. Agricultura, Brasil

ESTUDOS SÔBRE A PARATUBERCULOSE

I. DIAGNÓSTICO DE UM CASO DA DOENÇA *

NORMA MORAES DA SILVA ** e GELIO NOGUEIRA PIZELLI ***

I. INTRODUÇÃO

A Paratuberculose, ou Doença de Johne, é uma enterite crônica contagiosa causada pela multiplicação do Mycobacterium paratuberculosis na mucosa intestinal e gânglios linfáticos mesentéricos associados. O Mycobacterium paratuberculosis foi encontrado pela primeira vez por Johne e Frothingham [2] em 1895, nos tecidos de uma vaca que apresentava diarreia crônica, sendo confundido com o bacilo tuberculoso aviário. Bang [3] em 1906, foi o primeiro a considerar a doença como uma entidade distinta e não como tuberculose atípica, como até então era considerada, obtendo sucesso em transmiti-la a bezerros por ingestão forçada de mucosa intestinal infectada.

A Paratuberculose ocorre em bovinos, ovinos, caprinos, veados e camelos. É uma doença de distribuição universal e predomina particularmente em climas temperados, ocorrendo tambem em áreas úmidas dos trópicos, mas aparentemente não assume grandes proporções em clima quente e sêco [3]. A doença encontra-se difundida na Inglaterra, França, Belgica, Holanda, Dinamarca, Estados Unidos e Canadá [4], tendo sido ainda descrita no Sul da Austrália, na Tasmânia, na Nova Zelândia, no Kenia, no Norte, Sul e Oeste da África, na Índia, na Islândia, na Irlanda e na América do Sul [3].

No Brasil, Duppont, citado por Dacorso e cols. [2], notificou a doença pela primeira vez, em 1915. Posteriormente Andrade dos Santos e col. [5], em 1956 relataram a Paratuberculose em bovino importado, e Dacorso e cols. [2] em 1960, descreveram três casos desta doença em bovinos nacionais.

II. MATERIAL E MÉTODOS

Histórico do material

Os materiais que deram origem ao presente trabalho constaram de fezes, gânglios mesentéricos e mucosa intestinal, de um bovino da raça Jersey, pertencente a uma propriedade situada no Município de Petropolis, Estado do Rio de Janeiro.

Os sintomas apresentados pelo animal levaram o co-autor (G.N.P.), a pensar em Paratuberculose. Consistiram estes sintomas em diarreia e emagrecimento progressivo. O tratamento com sulfas, antibióticos e antitóxicos não deu resultado satisfatório.

---

* Entregue para publicação em 28-8-61. Trabalho a ser apresentado no VIII Congresso Brasileiro de Veterinária, a realizar-se em Belo Horizonte.

** Veterinária da Seção de Zoonoses Bacterianas, do Instituto de Biologia Animal.

*** Veterinário do Serviço de Fisio-Patologia da Reprodução e Inseminação Artificial, do Instituto de Zootecnia.

Para a comprovação do diagnóstico clínico foram coletadas fezes em um frasco de vidro e conservadas em temperatura de geladeira (4 a 8°C) por 24 horas. Posteriormente, o bovino foi trazido ao Instituto de Biologia Animal a fim de ser sacrificado e necropsiado pelos Drs. Jefferson A dos Santos e José Freire de Faria, sendo coletados gânglios mesentéricos e fragmentos de mucosa intestinal, correspondentes ao intestino delgado, para exames posteriores.

Para o diagnóstico da Paratuberculose realizamos: 1) exame necroscópico; 2) exame dos gânglios mesentéricos; 3) exame de fragmentos de mucosa intestinal.

1) *Exame necroscópico:* o exame necroscópico foi realizado pelos Drs. Jefferson A. dos Santos e José Freire de Faria.

2) *Exame dos gânglios mesentéricos:* para o exame bacterioscópico dos gânglios mesentéricos seccionamos alguns fragmentos dos mesmos, com os quais realizamos esfregaços por compressão, em lâminas de vidro.

3) *Exame da mucosa intestinal:* para o exame bacterioscópico da mucosa intestinal, realizamos esfregaços de raspado da mucosa lesada, em lâminas de vidro.

Utilizamos para a coloração dos esfregaços dos diferentes materiais a tecnica de Ziehl-Neelsen[1], que é especifica para a verificação da propriedade de alcool-ácido resistência das bactérias.

III. RESULTADOS

1) *Exame necroscópico:* a necrópsia revelou o seguinte — presença no peritôneo de 2 massas necróticas com calcificação, medindo uma 5 x 3 cm e a outra 10 x 6 cm aproximadamente; linfangite generalizada a todo o mesentério; hipertrofia dos gânglios linfáticos mesentéricos (fig. 1); espessamento de cêrca de 2/3 do intestino delgado. A abertura desta porção do intestino revelou o aspecto cerebeloide da mucosa, característico da doença de Johne (fig. 2).

2) *Exame bacterioscópico das fezes:* o exame dos esfregaços de fezes revelou a presença de bacilos álcool-ácido resistentes curtos, finos e retos, isolados ou em pequenos aglomerados de 3 a 5 elementos.

3) *Exame bacterioscópico dos gânglios mesentéricos:* o exame microscópico dos esfregaços dos gânglios mesentéricos permitiu verificar grande riqueza de bacilos álcool-ácido resistentes, curtos, finos e retos, formando grandes aglomerados (fig. 3).

4) *Exame bacterioscópico de fragmentos de mucosa intestinal:* os esfregaços da mucosa intestinal revelarem tambem bacilos alcool-ácido resistentes em grande número.

IV. RESUMO

Os autores observaram um caso de Paratuberculose em bovino nacional, pertencente a uma propriedade no Município de Petropolis, Estado do Rio de Janeiro. O diagnóstico da doença foi baseado nos exames clínico, necroscópico, e bacterioscópico das fezes, gânglios mesentéricos e mucosa intestinal.

V. AGRADECIMENTOS

Consignamos os nossos agradecimentos ao Dr. Leonhard Riedmüeller, Chefe da Secção de Zoonoses Bacterianas do Instituto de Biologia Animal, pelas faci-

lidades proporcionadas durante a execução do presente trabalho, e aos Drs. Jefferson Andrade dos Santos e José Freire de Farias, respectivamente Chefe e Veterinário da Secção de Anatomia Patológica, do mesmo Instituto, pela necropsia realizada.

STUDIES ON JOHNE'S DISEASE

I. DIAGNOSIS OF ONE CASE OF THE DISEASE

Abstract

The authors observed one case of Johne's Disease in Brasilian cattle. The diagnosis was based on clinical symptoms and bacterioscopical examination of faeces, mesentheric lymph nodes and affected intestinal mucosa.

VI. REFERÊNCIAS

1) BIER, O. (1959). — *Bacteriologia e Imunologia. 9.ª edição* — Ed. Melhoramentos — São Paulo — Brasil, pag. 784.

2) DACORSO, P.F.; CAMPOS, I.O.N.; FARIA, J.F. & LANGENEGGER, J. (1960). — Doença de Johne (Paratuberculose) em bovinos nacionais. *Arq. Inst. Biol. Anim. 3*: 129-139.

3) DOYLE, T.M. (1959).—*Infectious Disease of Animals — Diseases due to Bacteria*. London, Butterworths Scientific Publications, pag. 321.

4) HAGAN, W.A. & BRUNNER, D.W. (1957).— *The Infectious Diseases of Domestic Animals* — Third Edition. Comstock Publishing Associates. Ithaca, New York.

5) SANTOS, J.A. & SILVA, N.L. (1956). — Sôbre a primeira observação de paratuberculose no Brasil. *Bol. Soc. Bras. Med. Vet. 24*: 5-14.

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 169-173
1961 — Min. Agricultura, Brasil

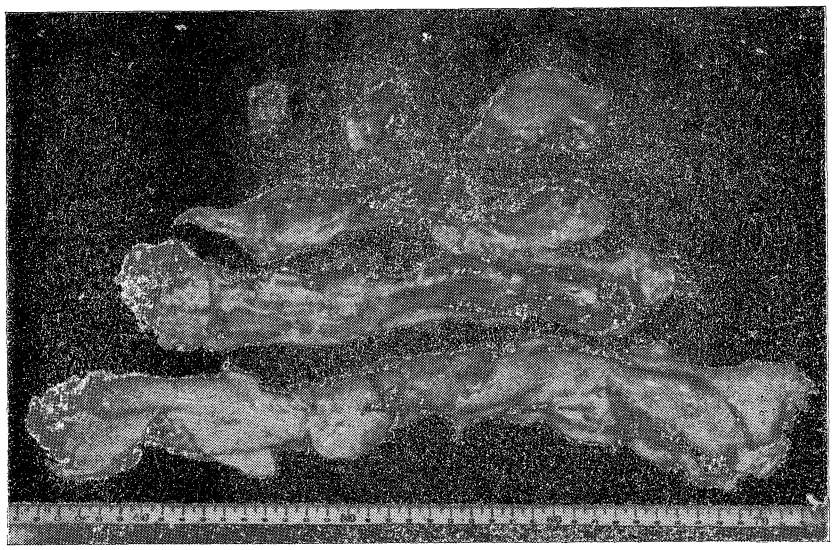


Fig. 1: *Gânglios linfáticos mesentéricos hipertrofiados.*

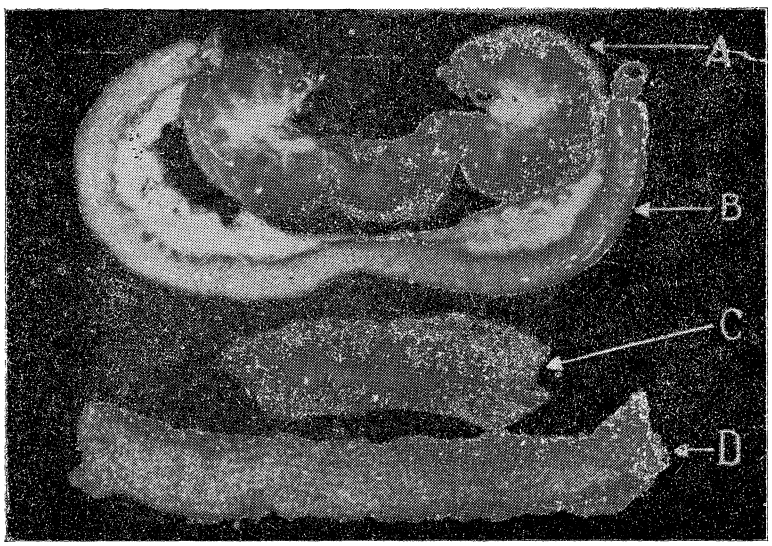


Fig. 2: *Intestino delgado: A — porção normal, fechada; B — porção do intestino lesado, monstrando espessamento da parede; C — porção do intestino normal aberta; D — porção de intestino lesado, aberta, mostrando o aspecto cerebeloide característico da doença.*

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 169-173
1961 — Min. Agricultura, Brasil

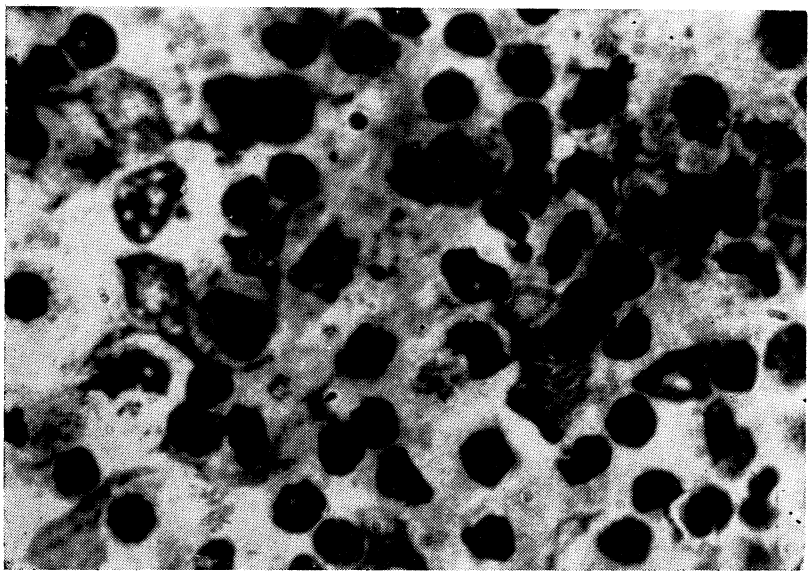


Fig. 3: *Microfotografia de esfregaço de gânglio linfático mesentérico, corado pelo método de Ziehl-Nielsen, mostrando grande riqueza em bacilos alcool-ácido resistentes.*

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 175-178
1961 — Min. Agricultura, Brasil

ESTUDOS SÔBRE A PARATUBERCULOSE

II. ISOLAMENTO DA AMOSTRA DE *MYCOBACTERIUM PARATUBERCULOSIS* EM MEIO DE HOHN *

NORMA MORAES DA SILVA **

I. INTRODUÇÃO

O Mycobacterium paratuberculosis foi cultivado pela primeira vez em meio de cultura artificial por Twort e Ingram [10], que utilizaram um meio de ovo glicerinado contendo 0,5 a 1,0% de bacilo tuberculoso. Este meio, com pequenas modificações é ainda usado para o isolamento deste microrganismo, podendo conter 4% de glicerina e cêrca de 1,0% de 'substância essencial", que é sintetizada por outros membros do grupo alcool-acido resistente. Um meio de ovo baseado no meio de Finlayson foi tambem usado com bons resultados por Taylor [9] em 1950. A "substância essencial" é geralmente suprida pela adição ao meio de cultura, de um extrato glicerinado de Mycobacterium phlei. O trabalho de Wooley e Mc Carter [11], em 1940, mostrou que o "phthiocol", isolado de bacilos álcool-ácido resistentes por Newman, Crowman, e Anderson [7], em 1934, supria em parte o fator essencial para o crescimento do Mycobacterium paratuberculosis. Almquist e Klose [1] em 1939 demonstraram que o phthiocol possuia as propriedades antihemorrágicas da vitamina K. Wooley e Mc Carter usaram a vitamina K sintética, com resultado satisfatório, mas o crescimento foi mais lento e menos brilhante do que quando o fator essencial era suprido por extratos de Mycobacterium phlei. Kujumgiev [6] em 1960, usou o meio de Finlayson, substituindo o extrato de Mycobacterium phlei por vitamina K sintética, tambem com resultado satisfatório.

Um notavel avanço para o cultivo do Mycobacterium paratuberculosis foi obtido por Francis, Macturk, Madinaveitia e Snow [5] quando isolaram o "fator essencial" do Mycobacterium phlei, que chamaram de "Mycobactin". Ensaios preliminares com Mycobatin em meio de ovo deram excelentes resultados.

II. MATERIAL E MÉTODOS

Para o isolamento do Mycobacterium paratuberculosis realizamos semeaduras de suspensões de gânglios linfáticos mesentéricos em meio de Hohn [2].

Estes gânglios linfáticos provinham de um bovino no qual diagnosticamos a paratuberculose [8].

Preparo da Suspensão: — A suspensão de gânglios linfáticos mesentéricos foi feita a partir do gânglio ileo-cecal e mais 4 outros gânglios mesentéricos,

---

* Entregue para publicação em 28-8-61.
Trabalho a ser apresentado no VIII° Congresso Brasileiro de Veterinária, a realizar-se em Belo Horizonte.

** Veterinária da Secção de Zoonoses Bacterianas, do Instituto de Biologia Animal.

e obtida da seguinte maneira: — após flambagem da superfície dos gânglios com uma espátula de metal fortemente aquecida na chama do bico de Bunsen, retirou-se fragmentos de cêrca de 1 cm^2, os quais foram colocados em gral esteril. Em seguida estes materiais foram triturados com o auxilio de um pistilo previamente esterilizado, adicionando-se 30 ml de sôro fisiológico esteril, a 8,5 por mil. O volume da suspensão obtida foi medido e dividido em 2 partes, A e B.

Suspensão A, com vitamina K: — à parte *A* da suspensão obtida adicionou-se vitamina K contida em um produto comercial cuja fórmula é a seguinte:

Vitamina K hidrossolúvel	0,015 g
Gelatina puríssima	2,0 g
Água destilada q.s.p.	20,0 ml

Para cada ml da suspensão *A* adicionou-se 0,1 ml deste produto comercial.

Suspensão B, sem vitamina K: — a parte *B* da suspensão de gânglios linfáticos mesentéricos foi utilizada sem adição de quaisquer substâncias.

Semeadura no meio de Hohn: — o meio de Hohn se compõe, em linhas gerais, de uma solução de sais minerais, emulsão de batatas, ovos e glicerina, tendo como impediente o verde de malaquita. Neste meio foram semeados as suspensões *A* e *B,* sendo utilizados 20 tubos para cada suspensão.

Após a semeadura os tubos foram fechados com parafina, para evitar o ressecamento do meio, e incubados em estufa bacteriológica a 37°C.

Exame bacterioscópico das culturas: — para a realização do exame bacterioscópico das culturas, foram feitos esfregaços do crescimento, os quais coramos pelo método de Ziehl-Neelsen [2].

III. RESULTADOS

Os resultados obtidos das semeaduras no meio de Hohn, podem ser sumarizados da seguinte forma:

Suspensão A, com vitamina K: — decorridas 5 semanas de semeadura da suspensão de gânglios linfáticos mesentéricos, adicionados de vitamina K, nos tubos contendo meio de Hohn, verificou-se em 3 destes tubos o crescimento de algumas colônias circulares, lisas, branco esverdeadas, com aproximadamente 0,5 mm de diâmetro. Uma semana mais tarde observamos crescimento idêntico em mais 8 tubos. O exame bacterioscópico destas colônias revelou crescimento puro de bacilos alcool-acido resistentes, finos, curtos e retos.

A primeira repicagem do crescimento obtido foi feita também em meio de Hohn. Para a realização desta repicagem o crescimento foi suspenso em um volume conhecido de sôro-fisiológico esteril a 8,5 por mil, adicionando-se a esta suspensão vitamina K, na mesma proporção usada para a suspensão de gânglios. O crescimento nestes tubos foi idêntico ao obtido no isolamento inicial, porem mais abundante e pode ser observado decorridas 4 semanas de incubação em estufa a 37°C.

A segunda repicagem foi realizada sem adição de vitamina K à suspensão do crescimento, obtendo-se desenvolvimento idêntico ao da 1.ª repicagem.

Suspensão B, sem vitamina K: — Os tubos semeados com a suspensão B, permaneceram incubados em estufa a 37°C durante 12 semanas, sem se verificar crescimento do Mycobacterium paratuberculosis.

IV. COMENTÁRIOS

Anteriormente a êste trabalho já havíamos tentado o isolamento do Mycobacterium paratuberculosis a partir de materiais provenientes dos casos de Paratuberculose descritos por Dacorso e cols.[3]. Êstes materiais eram constituídos de fragmentos de mucosa intestinal, dos quais realizamos exames bacterioscópicos comprovando a presença de aglomerados de bacilos-alcool-acido resistentes. A semeadura foi realizada em meio de Hohn, sem adição de vitamina K às suspensões de mucosa intestinal. Os tubos permaneceram 3 mêses na estufa a 37°C, não se conseguindo crescimento do Mycobaterium paratuberculosis.

Ao contrário de Woolley e Mc Carter[11] e Kujumgiev[8] que utilizaram a vitamina K no meio de cultura, adicionamos esta vitamina à suspensão de gânglios a ser semeada.

O tipo de crescimento do Mycobacterium paratuberculosis, por nós obtido no meio de Hohn, está de acôrdo com o descrito por Doyle[4] quando se refere ao crescimento deste microrganismo em meios sólidos.

V. RESUMO

A autora trabalhando com gânglios linfáticos mesentéricos, provenientes de um bovino sacrificado para a comprovação do diagnóstico da Doença de Johne[8], isolou, pela primeira vez no Brasil, o Mycobacterium paratuberculosis. O meio de cultura usado para o isolamento foi o meio de Hohn, empregando-se como artifício de tecnica, a adição de vitamina K à suspensão de gânglios semeada.

VI. AGRADECIMENTO

A autora agradece ao Dr. Leonhard Riedmüeller, Chefe da Secção de Zoonoses Bacterianas do Instituto de Biologia Animal, pelas facilidades proporcionadas durante a execução do presente trabalho.

STUDIES ON JOHNE'S DISEASE

II. ISOLATION OF THE *MYCOBACTERIUM JOHNEI* IN HOHN'S MEDIUM

Abstract

The author working with mesentheric lymph nodes, from a bovine sacrified to the comprovation of Johne's Disease, isolated the Mycobacterium johnei, for the first time in Brazil. The isolation was made on Honn's medium, adding vitamin K to the lymph nodes suspension.

VII. REFERÊNCIAS

1) ALMQUIST, H. J. & KLOSE, A. A. (1939). — The Anti-Hemorragic Activity of Pure Synthetic Phthiocol. *J. A. chem. Soc. 61*: 1611.

2) BIER, O. (1959). — *Bacteriologia e Imunologia.* Nona edição. Ed. Melhoramentos, São Paulo, Brasil, pag. 784.

3) DACORSO, P. F.; CAMPOS, I. O. N.; FARIA, J. F. & LANGENEGGER, J. (1960). — Doença de Johne (paratuberculose) em bovinos nacionais. *Arq. Inst. Biol. Anim. 3*: 129-139.

4) DOYLE, T.M. (1959). — *Infectious Diseases of Animals — Diseases Due To Bacteria.* London, Butterworths Scientific Publications pag. 321.

5) FRANCIS, J.; MACTURK, H. M.; MADINAVEITIA, J. & SNOW, J. A. (1953). — Mycobactin a Growth Factor for Mycobacterium johnei. I — Isolation from Mycobacterium phlei. *Biochem. J. 55*: 596-607.

6) KUJUMGIEV, I. (1960). — Survival of Mycobacterium johnei on Solid Media and Growth on Media Containing Vitamin K. *Zooprofilassi 15*: 31-32.

7) NEWMAN, M. S.; CROWDER, J. A. & ANDERSON, R. J. (1934). — The Chemistry of the Lipids of Tubercle Bacilli — XXXVIII — A New Synthesis of Phthiocol, the Pigment of Human Tubercle Bacilli. *J. Biol. Chem. 105*: 279-281.

8) SILVA, N. M. & PIZELLI, G. N. (1961). — Estudos sôbre a paratuberculose — I Diagnóstico de um caso da doença. *Arq. Inst. Biol. Anim.* neste vol.

9) TAYLOR, A. W. (1950). — Observations on the Isolation of Mycobacterium johnei in Primary Culture. *J. Path. Bact. 62*: 647.

10) TWORT, F. W. & INGRAM, G. L. (1913). — Johne's Disease — *Baillière, Tindall and Cox*, London.

11) WOOLEY, D. W. & MC CARTER, J. (1940). — Anti-Hemorragic Compounds as Growth Factor for the Johne's Bacillus. *Proc. Soc. Exp. Biol. N. York 45*: 357-360.

Arq. Int. Biol. Animal, 4: 179-183
1961 — Min. Agricultura, Brasil

ESTUDOS SÔBRE A PARATUBERCULOSE

III. ISOLAMENTO DO *MYCOBACTERIUM PARATUBERCULOSIS* EM EMBRIÃO DE GALINHA *

NORMA MORAES DA SILVA **

I. INTRODUÇÃO

Os trabalhos experimentais sôbre Paratuberculose, no sentido de se encontrar um animal de laboratório sensível à inoculação do Mycobacterium paratuberculosis, têm sido realizados desde longa data e por diversos autores.

Inoculações do Mycobacterium paratuberculosis em animais de laboratório têm sido realizadas com mais freqüência em coelhos [2, 6, 14] e em hamster [6] mas com pouco sucesso. Rankin [11] entretanto relata que coelhos inoculados intravenosamente com 2 semanas de idade, desenvolveram lesões típicas e sintomas da doença.

Francis [5] conseguiu produzir uma infecção progressiva em camundongos com 14 dias de idade, a qual se iniciou no fígado e baço e eventualmente envolveu também o trato intestinal. Lominsky, Cameron e Roberts [5], encontraram que camundongos inoculados por via intravenosa ou intraperitonial excretaram o bacilo nas fezes por 8 a 16 meses e que as lesões contendo os bacilos estavam presentes nos intestinos, gânglios linfáticos mesentéricos, fígado e baço.

As inoculações em ovos de galinha embrionados têm sido entretanto raras. Stavitsky [13], em 1946, inoculou quatro amostras padrões de Mycobacterium paratuberculosis em ovos de galinha embrionados. O referido autor usou para a realização dêste trabalho ovos de galinha embrionados com 11 dias de incubação e as inoculações foram feitas por diversas vias. Das amostras inoculadas apenas uma, "Strain M", apresentou crescimento, produzindo lesões na membrana cório-alantoide, quando inoculada por esta via.

No presente trabalho conseguimos o isolamento do Mycobacterium paratuberculosis em ovos de galinha embrionados diretamente de fragmentos de gânglios mesentéricos de um bovino com Paratuberculose [12].

II. MATERIAL E MÉTODOS

Para o isolamenao do Mycobacterium paratuberculosis em ovos de galinha embrionados, realizamos inoculações de suspensões de gânglios mesentéricos triturados provenientes de um bovino no qual diagnosticamos a Paratuberculose [12].

Preparo da suspensão: — a suspensão usada como inoculum foi preparada a partir de gânglios linfáticos mesentéricos e obtida da seguinte maneira: após

* Entregue para publicação em 28-8-61.
Trabalho a ser apresentado no VIII° Congresso Brasileiro de Veterinária, a realizar-se em Belo Horizonte.

** Veterinária da Seção de Zoonoses Bacterianas do Instituto de Biologia Animal do Ministério da Agricultura.

flambagem da superfície dos gânglios com uma espátula de metal fortemente aquecida na chama de um bico de Bunsen, retirou-se fragmentos de cêrca de 1 cm^2.

Êstes fragmentos, empregando-se o maior rigor de assepsia, foram triturados em gral, adicionando-se em seguida 30 ml de sôro fisiológico a 8,5 por mil O volume da suspensão obtida foi medido e dividido em duas partes, A e B.

Suspensão A, com vitamina K: à parte A da suspensão obtida foi acrescentada, em substituição ao "fator essencial de crescimento", a vitamina K (7, 15), contida em um produto comercial, cuja fórmula é a seguinte

Vitamina K hidrossolúvel	0,015 g
Gelatina puríssima	2,0 g
Água destilada q.s.p.	20 ml

Para cada ml da suspensão A adicionou-se 0,1 ml dêste produto comercial.

Suspensão B, sem vitamina K: a parte B da suspensão de gânglios mesentéricos foi utilizada sem adição de quaisquer substâncias.

Inoculação em ovos embrionados: para as inoculações foram utilizados ovos de casca branca, provenientes de granja oficial, a qual faz periòdicamente o contrôle da Pulorose.

Usamos para a inoculação de cada suspensão 22 embriões, sendo 11 com 4 dias e os restantes com 11 dias de incubação. Foram utilizados como testemunhas 6 embriões para cada suspensão, os quais não foram inoculados.

Êstes ovos eram incubados em chocadeira elétrica, regulada a 37°C e com uma umidade de 60 a 65°, sendo examinados ao ovoscópio antes da inoculação para marcação da câmara de ar e do embrião, e colocado em recipientes especiais com a câmara de ar para cima.

Para efetuar a inoculação conforme Camargo [3], se desinfetava o vértice da câmara de ar com tintura de iodo diluida a 1% e nêste local se fazia uma perfuração com um aparelno especial (Dremel-moto tool) de 1 a 2 mm de diâmetro, para permitir a passagem da agulha. Para a inoculação utilizamos agulhas 40 x 5, que eram introduzidas através da câmara de ar dirigindo-se-a para o lado oposto onde se encontra o embrião, de maneira que o inoculum, cuja quantidade era de 0,2 ml, ficasse depositado no saco vitelino. Feitas as inoculações as perfurações eram fechadas com uma mistura em partes iguais, de parafina e cêra de abelhas.

Os ovos inoculados eram novamente levados à incubadeira onde permaneciam, sendo feito diàriamente o contrôle da viabilidade dos embriões, com o auxílio do ovoscópio. Havendo embriões mortos os ovos eram abertos, com todos os cuidados de assepsia, através da câmara de ar, cortando-se a casca e deixando-se descoberta a membrana da casca que era separada com ajuda de pinças junto com a âmnio-alantoidiana, ficando desta forma descoberto o embrião, o qual era colocado em uma placa de Petri estéril. O contrôle da presença do Mycobacterium paratuberculosis era feito por meio de esfregaços da gema, corados pelo método de Ziehl-Neelsen [1].

As inoculações subseqüentes ao isolamento foram realizadas em embriões com 4 e 7 dias de incubação, com uma suspensão da gema em salina estéril, correspondente ao tubo n.º 3 da escala de Mc Farland, usando-se sempre a mesma via de inoculação, e deixando-se um número de testemunhas igual ao de ovos inoculados.

Cultura em meios artificiais: as culturas do Mycobacterium paratuberculosis foram feitas em meio de Hohn com glicerina, a partir da gema, fígado, baço e encéfalo dos embriões.

III. RESULTADOS

Os resultados obtidos das inoculações em ovos embrionados podem ser sumarizados da seguinte forma.

Suspensão A, com vitamina K: nos 5 primeiros dias após a inoculação morreram dos 44 ovos inoculados, 18 embriões que se revelaram negativos ao exame bacterioscópico da gema e do embrião. Decorridos 10 dias da inoculação morreu mais um embrião que revelou ao exame microscópico de esfregaços da gema, corados pelo método de Ziehl-Neelsen, a presença de alguns bacilos álcool-ácido resistentes. Quatro dias depois, isto é, com 14 dias de inoculado morreu mais um embrião no qual constatamos grande riquesa do Mycobacterium paratuberculosis nos esfregaços da gema e também nos de fígado, baço e encéfalo. Os dois embriões restantes foram sacrificados e revelaram-se positivos ao exame bacterioscópico. Todos os embriões positivos faziam parte do grupo inoculado com 4 dias de incubação.

Suspensão B, sem vitamina K: dos 22 ovos embrionados inoculados com a suspensão B, 13 morreram e os outros foram sacrificados, efetuando-se em todos o contrôle bacterioscópico por meio de esfregaços da gema e embrião corados pelo método de Ziehl-Neelsen, revelando a totalidade resultado negativo.

Nos embriões inoculados não se notam lesões macroscópicas, chegando os ovos muitas vêzes à eclosão. Êstes pintos que nasceram dos ovos inoculados, foram sacrificados com 1, 2, até 10 dias de idade, verificando-se que são positivos apenas até a gema ser totalmente reabsorvida. Após o desaparecimento da gema não encontramos mais nenhum bacilo álcool-ácido resistente.

Sob o ponto de vista da morfologia do Mycobacterium paratuberculosis notamos ao exame dos esfregaços corados pelo método de Ziehl-Neelsen que os bacilos apresentavam-se mais granulados do que quando cultivados em meios artificiais, e parece-nos também um pouco mais grossos.

Cultura em meios artificiais: — Os tubos de meio de Hohn com glicerina [1], semeados com a gema e órgãos dos embriões positivos, apresentaram após 6 dias em estufa a 37°C, crescimento abundante, sem colônias isoladas, de um induto com pigmento da côr da gema do ovo. O exame de esfregaços das culturas obtidas, corados pelo método de Ziehl-Neelsen, revelou tratar-se de crescimento puro de Mycobacterium paratuberculosis. Esta pigmentação é até o momento persistente nas repicagens sucessivas em meio de Hohn com glicerina.

IV. COMENTÁRIOS

Baseados nos trabalhos de Wooley e Mc Carter [15], e de Kujungiev [7] que já haviam usado com sucesso a vitamina K em substituição ao extrato de Mycobacterium phlei, nos meios de cultura para o Mycobacterium paratuberculosis, adicionamos a referida vitamina à uma das suspensões a ser inoculada. Êste artifício de técnica proporcionou resultados satisfatórios, pois, como se pode verificar no ítem de RESULTADOS, só conseguimos isolar o Mycobacterium paratuberculosis dos embriões inoculados com a suspensão de gânglios adicionada de vitamina K. As inoculações subsequentes foram entretanto realizadas com suspensão da gema em salina estéril, sem a adição de quaisquer substâncias, obtendo-se crescimento abundante.

Escolhemos o saco da gema como via de inoculação em face de ser nossa intenção nêste trabalho, isolar o Mycobacterium paratuberculosis mais ràpidamente do que em meios de cultura artificiais, facilitando assim o diagnóstico. Como sabemos ser a gema rica em substâncias nutritivas [10], e usada na

elaboração da maioria dos meios de cultura para o gênero Mycobacterium, foi esta via por nós preferida.

A granulação dos bacilos, assim como a pigmentação das culturas, verificadas nesta amostra isolada em ovos embrionados, já havíamos anteriormente obtido, embora mais discretamente no tocante à pigmentação, em inoculações de uma amostra padrão de Mycobacterium paratuberculosis em ovos embrionados. Trata-se da amostra "strain 7", recebida de Hannover, por gentileza do Sr. Professor Dr. Wagener, sem maiores detalhes.

Nassal [9], quando se refere à modificação da fórmula do meio de Petragnani, em que aumentou consideràvelmente a quantidade da gema de ovos, diz que êste aumento favoreceu a formação do pigmento das diversas amostras de Mycobatcerium tuberculosis.

Estamos presentemente realizando inoculações experimentais, desta amostra de Mycobacterium paratuberculosis isolada em ovos embrionados, em bovinos e ovinos, assim como em ovos embrionados por outras vias que não o saco da gema.

V. RESUMO

A autora trabalhando com uma suspensão de gânglios linfáticos mesentéricos, de um bovino com Paratuberculose, isolou o Mycobacterium paratuberculosis em ovos de galinha embrionados. Foram utilizados para o isolamento ovos com 4 dias de incubação, e as inoculações foram feitas no saco da gema com a suspensão de gânglios adicionada de vitamina K. Foi constatado crescimento abundante do Mycobacterium paratuberculosis 14 dias após a inoculação, por meio de esfregaços da gema corados pelo método de Ziehl-Neelsen. Culturas feitas a partir da gema e órgãos do embrião em meio de Hohn com glicerina, revelaram crescimento rico de Mycobacterium paratuberculosis com pigmento da côr da gema do ovo. É relatada u'a maior granulação dos bacilos após a passagem em ovos embrionados.

VI. AGRADECIMENTOS

Consignamos os nossos agradecimentos ao Sr. Chefe da Secção de Zoonoses Bacterianas do Instituto de Biologia Animal e ao Professor Dr. Vicente Leite Xavier, pelas facilidades proporcionadas e pelo estímulo recebido durante a execução do presente trabalho. Agradecemos também ao Dr. Renato Augusto da Silva, Chefe da Secção de Zoonoses por Vírus do Instituto de Biologia Animal, por nos ter iniciado na técnica de inoculação em ovos embrionados, pela cessão dos ovos utilizados, assim como pelo incentivo recebido durante a feitura dêste trabalho.

STUDIES ON JOHNE'S DISEASE

III. ISOLATION OF *MYCOBACTERIUM PARATUBERCULOSIS* IN CHICKEN EMBRYOS

Abstract

The author working with mesentheric lymph nodes from a cattle with Johne's disease, isolated the *Mycobacterium paratuberculosis* in developing chicken embryos. For the isolation were used embryos with 4 days of incubation and the inoculations were made in the yolk sac, with the mesenteric lymph-

nodes suspension added vitamin K. Abundant growth of *Mycobacterium paratuberculosis* were obtained 14 days after egg's inoculation. Cultures mades from yolk sac and embryo organs in Hohn's medium with glicerin, revealed luxurious growth of *Mycobacterium paratuberculosis* with orange pigment. It's related more granulation in the Johne's bacillus after chick embryo passage.

VIII. REFERÊNCIAS

1) BIER, O. (1959). — Bacteriologia e Imunologia — Nona edição — Ed. Melhoramentos, São Paulo — Brasil.

2) BOQUET, A. (1925). — Sur les propriétés pathogène du Bacille de Johne (Enterite hypertrophiante des Bovidés) a l'egard du Rat Blanc et de la Souris Blanche. — C. R. Biol. *93*, 219-220.

3) CAMARGO, F. N., VELASQUEZ, A., VASQUEZ, F. V., GIRON, A. T. & FLORES, F. (1953). — La vacunacion contra el derriengue con el virus Flury avianizado. Publicacion de Secretaria de Agricultura e Ganaderia. México — D.F.

4) CHANDLER, R. L. (1961). — Greater susceptibility to Mycobasterium johnei of C 57 Black Mice, when compared with CBA and Swiss White Mice. — Nature, Lond. *189*, 602-603.

5) FRANCIS, J. (1943). — J. Comp. Path. *53*, 140, in "Infectious Diseases of Animals — Diseases Due to Bacteria — London — Butterworths Scientific Publications, pag. 319.

6) HIRCH, A. (1956). — Infection of Hamsters and Rabbits with Mycobacterium johnei. — J. Comp. Path. *66*, 260-269.

7) KUJUNGIEV, I. (1960). — Survival of Mycobacterium johnei on solid media and growth on media containing vitamin K. — Zooprofilassi *15*, 31-32.

8) LOMINSKI, I.; CAMERON, J. & ROBERTS, G. B. S. (1956). — Experimental Johne's Disease in Mice. — J. Path. Bact. *71*, 211-222.

9) NASSAL, J. (1961). — Experimentelle Untersuchungen über die Isolierung Differenzierung und Variabilität der Tuberculosebakterien — Verlag Paul Parey in Berlin und Hamburg. pag. 17.

10) PERDRIX, J. (1952). — La incubacion y las enfermedades de los polluelos Ediciones GEA — Barcelona, España, pag. 48.

11) RANKIN, J. D. (1957). — Thesis, University of Reading, in "Infectious Diseases of Animals — Diseases Due to Bacteria, London — Butterworths Scientific Publications, pag. 319.

12) SILVA, N. M. & PIZELLI, G. N. (1961). — Estudos sôbre a Paratuberculose — I — Diagnóstico de um caso da Doença. — Arq. Inst. Biol. Anim. "in press".

13) STAVITSKY, A. B. (1946). — Reaction of the Developing Chicken Embryo and the Choriollantoic Membrane to Inoculation with Various Strains of Mycobacterium paratuberculosis (Johne's Bacillus) — Am. J. vet. Res. *7*, 470-476.

14) TWORT, F. W. (1914). — Vet. News *11*, 79, in "Infectious Diseases of Animals — Diseases Due to Bacteria. London — Butterworths Scientific Publications, pag. 319.

15) WOOLEY, D. W. & Mc CARTER, J. (1940). — Anti-hemorragic Compounds as Growth Factors for the Johne's Bacillus — Proc. Soc. exp. Biol. N. York, *45*, 357-360.

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 185-194
1961 — Min. Agricultura, Brasil

TAXAS DE COBALTO EM FÍGADO DE BOVINOS E OVINOS DO NORDESTE E NORTE DO BRASIL *

MARIA NORMELIA R. DÂMASO ** e CARLOS HUBINGER TOKARNIA ***

I. INTRODUÇÃO

Em trabalhos anteriores foram comunicados resultados de investigações sôbre a deficiência de cobre em ruminantes do Nordeste e Norte do Brasil, sendo que os resultados das análises químicas e sua interpretação em um trabalho [12], e em outro o aspecto patológico da doença observada nas regiões onde há deficiência do metal [13].

No presente trabalho apresentamos dados analíticos sôbre valores de cobalto encontrados nas mesmas amostras que tinham sido submetidas às análises de cobre, com exceção de poucas das quais não havia material em quantidade suficiente, e outras coletadas posteriormente.

II. MATERIAL E MÉTODOS

A técnica de trabalho na aquisição das amostras consistiu em coletar cêrca de 250 g de fígado de animais necropsiados, em frascos de vidro de 300 ml de capacidade, rigorosamente limpos a fim de evitar possível contaminação; usou-se formol a 10% para a conservação do material ("Formaldehyde, Reagent A.C.S., Baker & Adamson, Code 1778"). A água empregada na lavagem da vidraria e na preparação do formol, foi bidestilada em aparelhagem de vidro. Para cortar o órgão usamos tesoura de aço inoxidável. As amostras coletadas receberam números correspondentes ao nosso livro de registro.

Além de coletar e analisar as amostras de fígado de bovinos e ovinos do Norte e Nordeste do Brasil, efetuamos também a análise de amostras de fígado de oito bovinos adultos, bem desenvolvidos e em bom estado de nutrição, provenientes da região de Curvelo, Estado de Minas Gerais, e abatidos no Frigorífico de Mendes, Estado do Rio de Janeiro.

No laboratório as amostras foram cortadas em fragmentos menores dentro de cápsula de porcelana e sêcas em estufa a 150°C durante 24 horas.

A dosagem do cobalto foi feita segundo a técnica de Saltzman e Kenan [11] usando-se cêrca de 10 g de fígado sêco. O processo de mineralização da amostra foi uma adaptação do empregado por Marston e Dewey [8]: digestão úmida sulfo-nitro-perclórica em balão de Kjeldahl de 250 ml de capacidade.

O método de Saltzman e Kenan por nós empregado, consiste no tratamento da cinza (obtida, no caso, por digestão úmida sulfo-nitro-perclórica na proporção de 4 ml de H_2SO_4 (96%), 100 ml de HNO_3 (D 1,42) e 7,5 ml de $HClO_4$ (70%)), com ácido nítrico 1:1 em banho-maria fervente, durante 1 a 2 horas para destruir os polifosfatos formados durante o processo de mineralização. Depois a cinza é dissolvida em H_3PO_4 1:49 (o que reduz o efeito de interferências de outros metais) e a solução é ajustada a pH 3-4 com citrato de sódio em solução, usando-se metil-orange como indicador, sem perigo de precipitação. A separação do cobalto é feita com 1-Nitroso-2-Naftol e o complexo formado é extraído com clorofórmio; os extratos são reunidos e lavados com HCl 1:99 a fim de remover outros sais que produziriam turvação posterior; o clorofórmio é evaporado e o resíduo é destruído com ácido nítrico auxiliado pelo sulfato de sódio em solução, o qual não só completa a mineralização final como evita perdas de cobalto em casos de resíduo

* Êste trabalho foi ralizado sob os auspícios do Conselho Nacional de Pesquisas.

** Química bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

*** Veterinário da Seção de Anatomia Patológica do Instituto de Biologia Animal e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

escasso; o resíduo é dissolvido em solução de ácido fosfórico, o qual reduz o efeito de interferências de outros metais; acrescenta-se solução de Nitroso-R-Sal e, em seguida, solução de acetato de sódio, para formação do complexo com o cobalto cuja côr vai do amarelo avermelhado ao vermelho brilhante. A solução é aquecida em banho-maria fervente para maior desenvolvimento da côr, na presença de HCl que descora outros complexos que se possam formar com o Nitroso-R-Sal. A solução depois de fria é completada com água deionisada para o volume final e a concentração de cobalto é determinada espectrofotomètricamente a 530 mμ/segundo uma curva padrão construída com 1, 2, 4, e 8 microgramos de Co*** e preparada com a mesma técnica.

DETALHES SÔBRE A TÉCNICA E SUA PADRONIZAÇÃO — O método apresenta uma excepcional especificidade sem sofrer interferência de complexos ou precipitados devido a metais contaminantes da amostra (fato comprovado experimentalmente por nós com os sais de cobre (Cu**) e de ferro (Fe**)), além de possibilitar o uso de grandes amostras com boa recuperação do cobalto. A sensibilidade do método é de 0,1 micrograma de cobalto e a côr formada é estável por muitas horas, com perfeita aderência à lei de Beer.

Iniciamos o trabalho de padronização e estudo do método com espectrofotômetro de prisma, o "Spectronic 20 B.L.", mas os resultados foram pouco satisfatórios dada a pouca espessura das cubas; passamos a usar então um outro aparelho existente no laboratório, o Coleman "Universal", no qual padronizamos o método obedecendo as suas exigências, aplicando contudo algumas modificações, como por exemplo a diminuição do volume da reação para 2,5 ml (1/4 do volume original). Pelo uso da cuba retangular do aparelho, de 13 mm ganhamos em sensibilidade.

Tôda vidraria usada era lavada prèviamente com ácido nítrico e a água tanto a de limpeza final como a de uso na técnica era deionizada pela passagem em coluna de resinas de permuta ("Barnstead Bantam Standard Demineralizer Cartridge N.º 0802").

Padronizado o método fizemos inicialmente ensaios em branco ("blank") total, isto é, tôda a técnica desde a mineralização até a colorimetria, a fim de testar os reativos empregados e, ocasionalmente ensaios de recuperação e teste dos reagentes recém-preparados; controlamos assim a possibilidade de perda ou de contaminação, cuidados essenciais quando se faz análises dêste tipo. Resultados obtidos nestes ensaios se acham discriminados nos Quadros I a IV.

Todos os valores foram expressos em partes por milhão de pêso sôbre a matéria sêca (p.p.m.).

III. RESULTADOS

No Quadro V colocamos os valores encontrados nas amostras contrôle de fígado dos oito bovinos provenientes da região de Curvêlo, Minas Gerais.

Os resultados encontrados nas amostras de fígado de bovinos e ovinos do Nordeste e Norte do Brasil se acham distribuídos nos Quadros VI a XV de conformidade com as suas procedências.

A análise estatística dos resultados apresentada à tabela XVI, consta da aplicação do teste de "t" à diferença das medidas dos grupos comparados.

IV. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O cobalto é um dos elementos essenciais para os animais. Êste elemento não parece ter outra função no animal a não ser como constituinte da vitamina B_{12}, sendo ainda necessário para a proliferação dos microorganismos nos proventrículos que sintetizam as quantidades relativamente grandes desta vitamina necessária aos ruminantes [3, 4, 5, 15, 16].

Deficiência de cobalto em ruminantes é assim em efeito uma deficiência de vitamina B_{12} [4, 5, 15]. Havendo uma ligeira deficiência de cobalto na alimentação de ruminantes, o crescimento é retardado e a produção diminui. Se a deficiência é extrema, os ruminantes não podem ser criados na região, e os animais introduzidos nessa área morrem dentro de meses [3, 4, 5, 15].

As determinações de cobalto no fígado em bovinos e ovinos, permitem medir indiretamente a sua armazenagem sob forma de vitamina B_{12} e são consideradas extremamente valiosas no diagnóstico de deficiência de cobalto em condições naturais. A concentração de cobalto no fígado de bovinos e ovinos varia muito pouco com a idade do animal, porém é influenciada marcadamente pelo nível de cobalto ingerido na alimentação [15]. Existem numerosos dados analíticos de amostras de fígado de animais criados nos mais diversos meios; alguns

dêstes aparecem no Quadro XVII. Mc Naught[10], que fêz número elevado de análises, sugere o seguinte critério de diagnóstico: em ovinos, com idade de três mêses ou mais, valores abaixo de 0,06 p.p.m. indicam deficiência de cobalto; acima de 0,10 p.p.m. indicam um índice adequado de cobalto; em bovinos, com idade de nove meses ou mais, valores abaixo de 0,05 p.p.m. indicam deficiência de cobalto; acima de 0,12 p.p.m. um índice adequado; valores abaixo de 0,08 p.p.m. em ovinos com idade de seis mêses ou mais e abaixo de 0,10 p.p.m. em bovinos com idade de 9 mêses ou mais, indicam subdeficiência.

É necessário lembrar, que determinações de cobalto em fígado de ruminantes não são um meio infalível no diagnóstico da deficiência de cobalto. O cobalto do fígado pode se elevar a níveis dez vêzes superiores ao normal pela injeção do elemento, sem que esta reserva hepática esteja à disposição do animal em quantidades significantes para a síntese da vitamina B_{12} no rumen[15].

Antes de analisar os nossos resultados, temos que frisar dois pontos. Primeiro, nenhum dos animais, dos quais coletamos fígados, recebeu cobalto ou vitamina B_{12} por qualquer via. Em segundo lugar, para se poder saber se uma região é deficiente em cobalto, baseando-se em análises de cobalto em fígados de animais que nela pastaram, é preciso que os animais tenham permanecido nela tempo suficiente, para a evolução de estado deficitário; por isto, sòmente coletamos material de animais que nasceram e foram criados na região, ou que estiveram na área pelo menos durante um ano antes da coleta, com poucas exceções que assinalaremos a seguir.

Na região dos canaviais da Serra da Ibiapaba, Ceará, todo gado é levado anualmente, no início da época da chuva (início do ano), para o sertão, de onde sòmente volta para esta região da Serra da Ibiapaba no início da sêca (um pouco antes do meado do ano). Caso não se faça isto, o gado adoece com o "mal do fastio" e morre. Foi o que aconteceu em 1958, ano em que, em virtude da grande "sêca", que assolou todo o Nordeste, e especialmente o sertão, o gado em sua maioria não pôde ser levado para o sertão. Com exceção do animal n.º 646, que tinha passado 5 meses no sertão na primeira metade daquele ano, e o animal n.º 745, que veio em agôsto do sertão, 3 mêses antes da coleta, não se sabendo quanto tempo passou ali, o resto dos animais, dos quais coletamos amostras de fígado, estivera mais que um ano nesta região da Serra da Ibiapaba.

O gado nas regiões das chapadas do Piauí também é sujeito a um regime de mudanças de pastagens. A metade do ano (época da sêca) os bovinos pastam nestas chapadas, a outra metade (época da chuva) em outras regiões. Bovinos nascidos e criados nas chapadas, sem sair periòdicamente, ficam com uma doença, chamada na região vulgarmente de "entreva", doença esta caracterizada por deformações do esqueleto e amolecimento dos ossos. O material por nós coletado nestas chapadas é de bovinos nascidos e criados nesta região.

Nas chapadas do Maranhão o gado também é sujeito a um regime de mudanças de pastagens. Os animais que pastam durante muito tempo (mêses) nas chapadas ficam com uma doença chamada na região vulgarmente de "toque". Esta doença é caracterizada principalmente por falta de apetite ("fastio"), emagrecimento progressivo, pêlo áspero, fezes endurecidas, e finalmente morte. A profilaxia da doença ou a cura de animais afetados se consegue mudando-os periòdicamente para outros pastos fora das chapadas. A nossa amostra n.º 524 é de um bovino que tinha pastado durante os últimos mêses na chapada e esteve com o início do "toque". As duas outras amostras coletadas na região, n.ºs 532 e 533, são de bovinos sôbre os quais não conseguimos informações exatas em relação aos pastos em que tinham ficado durante os últimos mêses. Sòmente sabemos que não estavam ainda com sintomas definidos de "toque".

Adotando o critério de diagnóstico de NcNaught[10], verificamos que das dez amostras coletadas na região dos canaviais da Serra da Ibiapaba, Ceará, 4

mostram deficiência de cobalto (n.os 647, 648, 649 e 744), 3 tem valores subnormais (n.os 747, 749, 750), sòmente 3 tendo valores normais. Duas das últimas (n.os 646 e 745) provinham de animais que naquele mesmo ano tinham sido levados ao sertão.

Das 3 amostras coletadas nas chapadas do Maranhão uma é deficiente em cobalto (n.º 524), justamente a do animal afetado com "toque", outra tem um valor subnormal (n.º 533), e a terceira acusa um valor baixo (n.º 532).

As demais amostras de fígado coletadas no Nordeste e as poucas de origem do Norte, revelaram valores normais de cobalto.

Os valores de cobalto por nós encontrados nas amostras de fígado de bovinos adultos, bem desenvolvidos e em estado de nutrição bom, provenientes da região de Curvelo, Minas Gerais, estão de acôrdo com os valores considerados normais constantes da literatura.

Dados sôbre o quadro patológico da deficiência de cobalto observado nos animais nas regiões onde foi determinada deficiência de cobalto, bem como outros aspectos relacionados, serão apresentados e discutidos em outro trabalho.

V. RESUMO

Os autores comunicam os resultados das dosagens de cobalto obtidos em fígado de bovinos e ovinos do Nordeste e Norte do Brasil. Inicialmente dão detalhes sôbre o método usado.

Antes de analisar os dados obtidos, frisam que para se poder saber se uma região é deficiente em cobalto, baseando-se em análises de cobalto em fígados de animais que nela pastaram, é preciso que os animais tenham permanecido nela tempo suficiente, para a evolução do estado deficitário. Por isto, sòmente foram coletadas amostras em animais que nasceram e foram criados na região, ou que estiveram na área pelo menos durante um ano antes da coleta, com poucas exceções que assinalam; são os dos animais ns. 524, 532, 533, 646 e 745.

Foram encontrados valores baixos (abaixo de 0,05 p.p.m.) e subnormais (abaixo de 0,12 p.p.m.) de cobalto em fígado de bovinos provenientes de duas áreas, isto é, na maioria dos da região canavial da Serra da Ibiapaba, Estado do Ceará, e nas três amostras coletadas nas chapadas do Estado do Maranhão.

A análise de amostras de fígado de 8 bovinos considerados normais (Curvelo, Minas Gerais) mostram taxa média de cobalto igual a 0,194 ± 0,038 p.p., condizente com outros dados da literatura.

VI. AGRADECIMENTOS

Queremos deixar aqui os nossos agradecimentos ao Dr. Fernando Ubatuba, Professor da Escola Nacional de Veterinária e Chefe do Laboratório de Endocrinologia do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, pela valiosa orientação e a ajuda na execução do presente trabalho.

COBALT VALUES FOUND IN THE LIVERS OF BOVINES AND OVINES OF THE NORTHEAST AND NORTH OF BRAZIL

Abstract

The authors made cobalt estimations in liver samples collected from bovines and ovines in the Northeast and North of Brazil. They describe the analytical method used. Before discussing the results, the authors stress that if one wants

to know if a certain area is deficient in cobalt, basing oneself on cobalt estimations in the livers of animals which graze there, it is necessary that the animals have stayed in that area for a long enough period. Therefore the authors collected liver samples only from anmials which were born and bred in the area, or which had been in the area at least for one year before the liver samples were obtained, with five exceptions. The authors found low (below 0,05 p.p.m.) or sub-optimal (below 0,12 p.p.m.) cobalt values in livers of bovines of two areas. These values were found in most liver samples from the sugar cane plantation area of the Serra da Ibiapaba, State of Ceará, and in the three samples collected in the "chapadas" of the State of Maranhão. All other liver samples taken in the Northeast and the few from the North of Brazil had normal cobalt values. The analysis of 8 liver samples of bovines considered normal from Curvelo, State of Minas Gerais, gave a meanvalue of 0,194 ± 0,038 p.p.m. This is in agreement with the findings of other authors.

VII. REFERÊNCIAS

1) ASKEW, M.O. & WATSON, J. (1943).—*N. Z. J. Sci. Technol., 25* A:81. Citado por GEE, R.W.

2) CORRÊA, R. (1957).—Carência de cobalto em bovinos. *Arq. Inst. Biol., 24*: 199-227.

3) CUNNINGHAM, I.J. (1955).—Diseases Caused by Deficiencies of Trace Elements. Em *Advances in Veterinary Science*. Vol. 2. Academic Press Inc., Publishers, New York, pgs. 138-181.

4) DAVIS, K.G. (1958).—Metabolic Function and Practical Use of Cobalt in Nutrition. Em *Trace Elements*. Academic Press Inc., New York & London, pgs. 193-211.

5) GEE, R.W. (1958).—*Cobalt and Ruminant Nutrition*. Nicholas Institute for Medical and Veterinary Research, "Burnham Beeches", Sherbrooke, Victoria, Australia. 29 pgs.

6) GESSERT, C.F.; BERMAN, D.T.; KASTELIC, J.; BENTLEY, O.G. & PHILLIPS, P.H. (1952).—Concentrations of Certains Minerals in the Blood and Livers of Cattle as Related to Trace Mineral Supplementation and Bovine Brucellosis. *J. Dairy Sc., 35*: 693-698.

7) HART, P.C. (1954).—Onderzoek naar het cobaltgehalte van runderlevers. *Tijdschrift v. Diergeneeskunde, 79* (14): 517-528.

8) MARSTON, H.R. & DEWEY, D.W. (1940).—The Estimation of Cobalt in Plant and Animal Tissue. *Austr. J. Exp. Biol., 18*: 343-352.

9) MARSTON, H.R.; LEE, H.J. & MCDONALD, I.W. (1948).—Cobalt and Copper in the Nutrition of Sheep. *J. Agr. Sc., 38* (2): 222-228.

10) MCNAUGHT, K.J. (1949).—Cobalt, Copper and Iron in the Liver in Relation to Cobalt Deficiency Ailment. *New Zeland J. Sc. Techn., 30* (1) Sect. A: 26-43.

11) SALTZMAN, B.E. & KENAN, R.J. (1957).—Microdetermination of Cobalt in Biological Material. Em GLICK, D. *Methods of Biochemical Analysis*, Volume 5. Interscience Publishers, Inc., New York, pgs. 181-223.

12) TOKARNIA, C.H.; MITIDIERI, E. & AFFONSO, O.R. (1959).—Dados analíticos sôbre valores de cobre e ferro encontrados em fígados de bovinos e ovinos do Nordeste e Norte do Brasil. *Arq. Inst. Biol. Animal, 2*: 33-37.

13) TOKARNIA, C.H.; CANELLA, C.F.C. & DÖBEREINER, J. (1960).—Deficiência de cobre em bovinos no delta do rio Parnaíba, nos Estados do Piauí e Maranhão. *Arq. Inst. Biol. Animal, 3*: 25-37.

14) UNDERWOOD, E.J. & HARVEY, R.J. (1938).—Enzootic Marasmus: The Content of Soils, Pastures and Animal Organs. *Austr. Vet. J., 14*: 183-189.

15) UNDERWOOD, E.J. (1956).—*Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, Academic Press Inc., Publishers, New York.

16) UNDERWOOD, E.J. (1958).—Trace Elements in Animals. Em *Trace Elements. Academic Press* Inc., New York & London, pgs. 33-45.

QUADRO I

Resultados encontrados para "blanks" totais (todo o processo desde a mineralização até à colorimetria)

NÚMERO	Densidade optica
1	0,015
2	0,022

QUADRO II

Dados referentes à determinação do cobalto em alíquotas de água deionizada usada na técnica

MATERIAL	Quantidade	Co+++ em microgramos
Água deionisada	5 ml	0,05 < 0,1
Água deionisada	5 ml	0,05 < 0,1

QUADRO III

Resultados referentes à pesquisa do Co+++ no líquido conservador das amostras de fígado (formol a 10%) antes e após o seu uso, ou seja em estado puro e em contato com amostras

MATERIAL	Quantidade	Co+++ em p.p.m.
Formol puro (1956)	30 ml	0,016
Formol puro (1957)	30 ml	0,010
Formol puro (1956)	10 ml	0,020
Formol da amostra 7	10 ml	0,028
Formol da amostra 9	10 ml	0,028

QUADRO IV

Dados referentes às provas de recuperação do cobalto (Co+++)

N.º	MATERIAL	Data	Recuperação do Co+++ em μg		%
			teórico	achado	
1	Sol. Padrão	20- 9-60	5,00	4,70	94
2	Sol. Padrão	13-12-60	4,00	4,00	100
3	Sol. Padrão	19- 1-61	1,00	1,04	104
4	Sol. Padrão	5- 5-61	1,00	1,08	108
5	Fígado bovino (10,5 gr) + 1 μg de Co+++	5- 5-61	2,65	2,75	103

QUADRO V

Valores de cobalto encontrados nas amostras de fígado dos bovinos provenientes da região de Curvelo, Minas Gerais

NÚMERO	Cobalto em p.p.m.
1	0,206
3	0,220
4	0,238
6	0,225
7	0,211
8	0,149
9	0,163
10	0,149
Média e desvio padrão ♂ ($\overline{X} \pm S$)	= 0,194 ± 0,036

$$+ \quad s = \sqrt{\frac{\sum (x - \overline{x})^2}{n - 1}}$$

QUADRO VI

Região do Sertão Nordestino

N.º	PROCEDÊNCIA	Espécie	Idade	Coleta	Co+++ p.p.m.
168	Bahia-Mun. Casa Nova-Faz. Caldeirão....	ovino	adulto	3-12-56	0,359
182	» Mun. Juazeiro-Gerais.....	»	»	6-12-56	0,340
171	Pernambuco-Mun. Petrolina-Faz. Cachabuco	bovino	6 anos	4-12-56	0,406
176	» » » »	»	10 »	»	0,352
192	R. Gr. do Norte-Mun. Serra Negra-Faz. Pedrecal.....	»	6 »	12-12-56	0,247
741	Ceará-Mun. de Granja-Faz. Alto Alegre....	»	2 1/2 »	26-11-58	0,245

Média e desvio padrão = 0,325 ± 0,065

QUADRO VII

Região do Interior do Estado do Piauí

N.º	PROCEDÊNCIA	Espécie	Idade	Coleta	Co+++ p.p.m.
136	Piauí-Mun. Campo Maior-Faz. Alegre	bovino	2 anos	19-11-56	0,290
140	» » » » »	»	1 »	»	0,302
154	» Mun. Pimenteiras-Gerais.....	»	6 »	26-11-56	0,257

Média e desvio padrão = 0,283 ± 0,023

QUADRO VIII

Região das Chapadas do Estado do Piauí

N.º	PROCEDÊNCIA	Espécie	Idade	Coleta	Co+++ p.p.m.
46	Piauí-Mun. Piracuruca-Faz.Cajueiro d'Água	bovino	4 anos	21-10-56	0,161
78	» » » » »	»	5 »	25-10-56	0,228
93	» » » » »	»	2 »	27-10-56	0,279
145	Piauí-Mun. Alto-Faz. Samambaia.....	»	10 »	21-11-56	0,302

Média e desvio padrão = 0,242 ± 0,062

QUADRO IX

Região das Chapadas do Maranhão

N.º	PROCEDÊNCIA	Espécie	Idade	Coleta	Co+++ p.p.m.
524	Maranhão-Mun. Brejo-Faz. Guabiraba.....	bovino	3 anos	4- 6-57	0,047
532	» Mun. Chapadinha-Faz. Roça Velha	»	7 »	9- 6-57	0,104
533	» » » » »	»	2 »	»	0,083

Média e desvio padrão = 0,078 ± 0,029

QUADRO X

Serra da Ibiapaba, Ceará, Região do plantio da cana. Animais com menos de um ano na região

N.º	PROCEDÊNCIA	Espécie	Idade	Coleta	Co+++ p.p.m.
646	Mun. Ubajara-Alto da Cruz.....	bovino	4 anos	1- 9-58	0,210
745	» Viçosa-Sitio Rebentão.....	»	8 »	29-11-58	0,120

Média e desvio padrão = 0,165 ± 0,064

QUADRO XI

Serra da Ibiapaba, Ceará, Região do plantio da cana. Animais que nasceram ou com mais de um ano na região

N.º	PROCEDÊNCIA	Espécie	Idade	Coleta	Co+++ p.p.m.
647	Mun. Tianguá-Sitio Corrego Taboca.....	bovino	1 1/2 anos	2- 9-58	0,037
648	» » » » »	»	7 mêses	»	0,038
649	» Ibiapina-Sitio Floresta.....	»	6 anos	3- 9-58	0,027
744	» Viçosa-Prop. de R.R.C.....	»	1 »	28-11-58	0,030
747	» Ubajara-Prop. de R.P.....	»	7 »	1-12-58	0,097
748	» » Sitio Queimado.....	»	5 »	»	0,126
749	» » Sitio Carpina.....	»	9 »	2-12-58	0,065
750	» Tianguá-Sitio Salgado.....	»	5 »	3-12-58	0,083

Média e desvio padrão = 0,063 ± 0,036

QUADRO XII

Serra da Ibiapaba, Ceará, Região de Carrasco

N.º	PROCEDÊNCIA	Espécie	Idade	Coleta	Co+++ p.p.m.
742	Mun. Viçosa-Fazenda Tanque.....	bovino	10 anos	27-11-58	0,261
743	» » Sítio Macajituba.....	»	3 »	»	0,205

Média e desvio padrão = 0,233 ± 0,039

QUADRO XIII

Serra da Miruoca, Ceará

N.º	PROCEDÊNCIA	Espécie	Idade	Coleta	Co+++ p.p.m.
650	Mun. de Miruoca-Prop. de S.L.....	bovino	5 anos	4-12-58	0,250

QUADRO XIV

Região Litorânea do Nordeste

N.º	PROCEDÊNCIA	Espécie	Idade	Coleta	Co+++ p.p.m.
594	Ceará-Mun. Aracatí-Faz. Porto J. Alves....	ovino	2 anos	17- 2-58	0,309
596	» » » Faz. Carnaúbinha.....	bovino	3 »	18- 2-58	0,214
598	» » » Faz. Imburana.....	»	2 »	19- 2-58	0,289
600	» » » Faz. Belém.....	»	10 »	21- 2-58	0,134
601	» » » » »	ovino	adulto	22- 2-58	0,240
602	» » » » »	bovino	6 anos	»	0,322
603	» » » Faz. São Chico.....	ovino	1 »	»	0,226
604	» » » Faz. Novo Mundo.....	bovino	2 »	23- 2-58	0,200
605	» » » Faz. Mutuca.....	»	3 »	»	0,284
640	» Mun. Pacatuba-Faz. Messejana.....	»	adulto	18- 6-58	0,115
641	» » » » »	»	6 anos	»	0,230
752	» Mun. Fortaleza-Pôsto Criação Itaperi.	»	adulto	20- 2-59	0,252
755	» » » » » » .	»	»	12- 5-59	0,161
103	Piauí-Mun. Parnaíba-Faz. Bom-Jesus.....	»	3 anos	3-11-56	0,194
104	» » » » » »	»	3 »	»	0,201
117	» » » Faz. Cotia.....	»	3 »	8-11-56	0,140
426	» » » Faz. Bom-Jesus.....	ovino	adulto	7- 5-57	0,186
109	Maranhão-Mun. Arraioses-Faz. Agua Fria..	bovino	3 anos	7-11-56	0,245
4	» Mun. São Luíz-Sítio S. Conceição	»	8 »	4-10-56	0,166

Média e desvio padrão = 0,216 ± 0,058

QUADRO XV

Região do Território do Rio Branco

N.º	PROCEDÊNCIA	Espécie	Idade	Coleta	Co+++ p.p.m.
323	Murupá.....	bovino	9 anos	18- 2-57	0,390
325	»	»	10 »	»	0,385
324	Cotingó.....	»	4 »	»	0,274

Média e desvio padrão = 0,349 ± 0,066

QUADRO XVI

Análise estatística dos resultados. Comparação entre os diferentes grupos. Significância avaliada pelo teste de "t" de "Student" usando-se os níveis de 5% (significante) e 1% (altamente significante)

GRUPOS COMPARADOS	"t"	P
Normais-Região do Sertão Nordestino (Quadro VI).....	4,94	P<0,01
Normais-Região do Interior do Piauí (Quadro VII).....	3,95	P<0,01
Normais-Região da Chapada do Piauí (Quadro VIII).....	1,72	P>0,05
Normais-Região da Chapada do Maranhão (Quadro IX).....	5,01	P<0,01
Normais-Região da Serra Grande, Ceará (Quadro X).....	0,91	P>0,05
Normais-Região da Serra Grande, Ceará (Quadro XI).....	7,27	P<0,01
Normais-Região de Carrasco, Ceará (Quadro XII).....	1,36	P>0,05
Normais-Região Litorânea do Nordeste (Quadro XIV).....	0,97	P>0,05
Normais-Região do Território de Rio Branco (Quadro XV).....		

QUADRO XVII

Valores de cobalto em fígado de bovinos e ovinos sadios e deficientes (p.p.m. de pêso sôbre a matéria sêca)

ESPÉCIE E IDADE	Estado em Co	Valores de cobalto	Referência
Ovinos.....	sadios	0,08—0,58 (média 0,28)	Underwood & Harvey (14)
»	doentes	0,03—0,14 (média 0,06)	»
» jovens.....	sadios	0,15	Askew & Watson (1) apud Gee
» »	deficientes	0,024—0,082 (média 0,02)	»
» c/mais 8 mêses	sadios	0,24—0,47 (média 0,34)	Marston et col (9)
» » » »	deficientes	0,04—0,22 (média 0,09)	» » » »
» » 3 »	sadios	0,063—0,322 (média 0,167)	Mc Naught (10)
» » 5 »	doentes	0,008—0,054 (média 0,032)	» » »
Bovinos » 6 »	sadios	0,122—0,398 (média 0,240)	» » »
» 1 ano.....	doentes	0,025—0,038 (média 0,034)	» » »
» adults.....	sadios	0,16—0,59	Gessert et al. (6)
» »	s/def. Co	0,22—0,45 (média 0,37)	Hart (7)
» »	sadios	0,113—0,328 (média 0,201)	Corrêa (2)
» »	doentes	0,026—0,100 (média 0,058)	»
» »	sadios	0,194± 0,038	Dâmaso & Tokarnia (este trabalho)

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 195-202
1961 — Min. Agricultura, Brasil

DEFICIÊNCIA DE COBALTO EM BOVINOS NA SERRA DA IBIAPABA, NO ESTADO DO CEARÁ *

CARLOS HUBINGER TOKARNIA **, JÜRGEN DÖBEREINER **, CAMILLO F.C. CANELLA ***
e MARIA NORMELIA R. DÂMASO ****

I. INTRODUÇÃO

Em 1958 fomos incumbidos de estudar a causa de grande mortandade de bovinos devida a uma doença chamada na região de "mal do fastio", que ocorria nos Municípios de Viçosa do Ceará, Ibiapina, Ubajara e Tianguá, situados na Serra da Ibiapaba no Estado do Ceará. A região onde ocorria a doença, é uma região alta. Nessa área planta-se principalmente cana e café. Além de certo número de vacas para o fornecimento de leite, existe um elevado número de bois que servem como animais de tração e para acionar os moinhos de cana. Êsses animais são indispensáveis a êsses trabalhos, e são de bastante valor. Pelo histórico percebe-se que a ocorrência da doença está ligada a longa permanência do gado nessa região, podendo ser prevenida pela mudança periódica dos animais para o sertão.

Apuramos o seguinte histórico durante os nossos estudos na região, em setembro e novembro/dezembro de 1958. Todo ano, no comêço do "inverno" (época da chuva), isto é, em janeiro, o gado da Serra é levado para o sertão. Volta em maio para a Serra. Isso é feito, porque "o gado precisa apanhar o clima do sertão anualmente", "o gado precisa descer todo ano para desonerar, para se desintoxicar". Vaca de leite com cria que não desce, é certo morrer o bezerro, e ela talvez também.

Êsse ano o gado, em sua maioria, não foi para o sertão. Ficou-se esperando o inverno que não veio e assim o gado ficou na Serra, adoecendo. O principal sintoma da doença é o "fastio". A rês doente não quer comer. Só quer comer palha sêca. Pouca. As fezes ficam sêcas, como de jumento ou de caprino. O pêlo fica arrepiado. O animal emagrece. Muitos acham que é "mal dos chifres". Furam ou serram os chifres [15]. O gado nessa região é mantido em currais. A alimentação é constituída de palha de cana, "rama do mato", às vêzes milho.

O pouco gado da Serra, que passou por tempo variável no sertão êsse inverno, apresentou ou não sintomas da doença dependendo do período que permaneceu no sertão. Por exemplo A.O. teve um garrote 17 dias no sertão; está com o "mal do fastio". J.O. teve os seus bois durante 3 meses no sertão; estão bonitos.

Devido à falta de chuva no sertão, muitos trouxeram gado à Serra. Muitos animais morreram no caminho, outros depois da chegada. A maior parte dêsse gado chegou muito magro e fraco. Entre êsse não existe o "mal do fastio".

A doença teve uma grande repercussão sôbre tôda a vida econômica da região, acarretando graves prejuízos, tanto pela perda de animais de valor considerável como pelos transtornos que causou nos trabalhos agrícolas. Não podemos fornecer cifras sôbre o número de animais doentes e mortos, porém vimos que quase todos os animais que não foram levados ao sertão por um tempo

* Êste trabalho foi realizado sob os auspícios do Conselho Nacional de Pesquisas.

** Da Seção de Anatomia Patológica do Instituto de Biologia Animal, Rio de Janeiro, e bolsistas do Conselho Nacional de Pesquisas.

*** Da Inspetoria Regional de Defesa Sanitária Animal em Fortaleza, Ceará, e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

**** Química bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

mais ou menos prolongado naquele ano, e que constituiam a grande maioria, estavam afetados pela doença em maior ou menor intensidade. O número de mortes foi elevado.

II. MATERIAL E MÉTODOS

O nosso estudo consistiu em 1.º) observações clínicas em animais da região, e na necrópsia de vários dêsses, tanto de afetados pela doença como de sadios, 2.º) no estudo histopatológico dos órgãos dos animais necropsiados, e 3.º) em dosagens de cobalto no fígado dos bovinos necropsiados.

Todo material coletado para exames histopatológicos, órgãos da cavidade toráxica e abdominal, bem como o sistema nervoso central, foi fixado em formol a 10%, incluído em parafina e corado pela hematoxilina eosina. Foram feitas colorações especiais para cálcio e hemosiderina, usando-se a técnica de van Kossa e as reações de azul da Prussia e de Turnbull respectivamente. Os cortes de rim foram submetidos ao PAS. Fragmentos de fígado fixados em formal a 10% foram também cortados com micrótomo de congelação e os cortes foram corados pelo Sudan IV para a pesquisa de gordura.

As análises químicas das amostras de fígado foram efetuadas no Laboratório de Endocrinologia do Instituto Oswaldo Cruz [5].

III. RESULTADOS

1) *Observações clínicas e achados de necrópsia.*

Animal n.º 646 — Alto da Cruz, Município Ubajara.
1/9/58 — Bovino, macho, com 4 anos de idade, mestiço.
Histórico: Foi ao sertão em 6/1/58 e voltou gordo em 3/5/58. Depois foi emagrecendo. Caído há 2 dias. — Observações clínicas: Temperatura 37,4º. Animal em decúbito lateral esquerdo. Estado de nutrição mau. Edema submaxilar. — Sacrificado por sangria. Achados de necrópsia: Além de emagrecido e edemas na região submaxilar e no tecido subcutâneo do lado esquerdo do animal, foi constatada uma pericardite adesiva fibrosa.

Animal n.º 647 — Sítio Córrego Taboca, Município Tianguá.
2/9/58 — Bovino, macho, com 1 1/2 anos de idade, mestiço.
Histórico: Êste animal está na região há mais de um ano, desde 1957. Está doente há meses. Apresenta falta de apetite. — Observações clínicas: Temperatura 39,2º. Estado de nutrição mau. Pêlo áspero. Mucosas brancas. — Animal sacrificado. Achados de necrópsia: Fígado amarelo. Infestação regular por *Trichostrongiloidea* na parte inicial do intestino delgado.

Animal n.º 648 — Sítio Córrego Taboca, Município Tianguá.
2/9/58 — Bovino, macho, com 7 meses de idade, mestiço.
Histórico: Êste animal nasceu no local e nunca saiu. Está com o "mal do fastio". — Observações clínicas: Temperatura 40,8. Estado de nutrição mau. Pêlo áspero. Mucosas brancas. — Animal sacrificado. Achados de necrópsia: Fígado um pouco amarelo. Infestação regular por *Trichostrongiloidea*.

Animal n.º 649 — Sítio Floresta, Município Ibiapina.
3/9/58 — Bovino, macho, com 6 anos de idade, mestiço.
Histórico: Êste bovino está na região há mais de um ano. Está com o "mal do fastio". Não quer nem milho. Foi emagrecendo, cada vez piorando. Está caído há uma semana. Observações clínicas: Temperatura 38,1º. Estado de nutrição péssimo. Pêlo áspero. Mucosas brancas. Olhos fundos. — Sacrificado por sangria. Achados de necrópsia: Fígado castanho claro. Ambos os pulmões em suas partes antero-inferiores hepatizados. As partes restantes dos pulmões com enfisema.

Animal n.º 744 — Propriedade de R.R.C., Município Viçosa do Ceará.
28/11/58 — Bovino, macho, com aproximadamente 1 ano de idade, mestiço.
Histórico: Nasceu na propriedade e nunca saiu. Há 3-4 meses vive doente. Não quer comer direito. Emagrecido. Pêlo áspero. — Observações clínicas: Estado de nutrição mau. Pêlo áspero. — Sacrificado. Achados de necrópsia: Fígado castanho claro. Infestações leves por *Haemonchus sp.* e *Bunostomum sp.*

Animal n.º 745 — Sítio Rebentão, Município Viçosa do Ceará.
29/11/58 — Bovino, fêmea, com 8 anos de idade, mestiço.
Histórico: Veio há 4 meses, em agôsto, do sertão. Então o estado de nutrição era regular. Há 4 dias foi encontrado caído. Não levantou mais. Observações clínicas: Temperatura 38,7º. Estado de nutrição mau. Pêlo áspero. Infestação regular por *Ixodídeos*. — Animal sacrificado. Achados de necrópsia: Infestação regular por *Haemonchus sp.*

Animal n.º 747 — Propriedade de R.P., Município Ubajara.
1/12/58 — Bovino, fêmea, com 7 anos de idade, mestiço.
Histórico: Apresentara um defeito em u'a mão. — Abatido para ser aproveitado para consumo. Achados de inspeção: Hidropericárdio. Fígado ao corte com tonalidade discretamente alaranjada.

Animal n.º 748 — Sítio Queimado, Município Ubajara.
1/12/58 — Bovino, macho, com 5 anos de idade, mestiço.
Histórico: Êste ano não foi ao sertão. — Abatido para consumo. Achados de inspeção: Ausência de lesões dignas de nota.

Animal n.º 749 — Sítio Carpina, Município Ubajara.
2/12/58 — Bovino, macho, com 9 anos de idade, mestiço.
Histórico: Êste ano não esteva no sertão. Esteve doente há 2 meses. Não queria comer. Estava com o pêlo áspero. — Morreu hoje há poucas horas. Achados de necrópsia: Ausência de lesões dignas de nota.

Animal n.º 750 — Sítio Salgado, Município Tianguá.
3/12/58 — Bovino, macho, com 5 anos de idade, mestiço.
Histórico: Passou o último ano na Serra. — Há pouco foi sangrado. Achados de necrópsia: Gorduras cavitárias com atrofia hidrópica.

2) *Estudo histopatológico dos órgãos dos animais necropsiados.*

Animal n.º 646 (registrado na Seção de Anatomia Patológica sob o n.º 12 454):
Rim — Presença de abundante pigmento castanho no epitélio da parte distal da alça de Henle (hemosiderina).
Baço — Hemosiderose acentuada.
Suprarenal — Presença de pigmento amarelado no citoplasma de células do estrato glomerular (lipofuscina).

Animal n.º 647 (reg. S.A.P. n.º 12 455):
Fígado — Esteatose difusa acentuada, principalmente em gotas grandes; núcleos bem conservados.
Rim — Raros precipitados na medular.
Baço — Hemosiderose discreta.

Animal n.º 648 (reg. S.A.P. n.º 12 456):
Fígado — Esteatose difusa acentuada, principalmente em gotas grandes; núcleos bem conservados.

Animal n.º 649 (reg. S.A.P. n.º 12 457):
Coração — Presença de pigmento finamente granular de côr amarelada parda no citoplasma das fibras cardíacas nos polos dos núcleos (lipofuscina).
Pulmão — Broncopneumonia purulenta.
Fígado — Esteatose moderada.
Rim — Poucos precipitados na medular.
Baço — Hemosiderose intensa.

Animal n.º 744 (reg. S.A.P. n.º 12 574):
Fígado — Esteatose moderada.
Rim — Bastante precipitados na medular.

Animal n.º 745 (reg. S.A.P. n.º 12 575):
Coração — Presença de pigmento finamente granular de côr amarelada parda no citoplasma de fibras cardíacas nos polos dos núcleos (lipofuscina).
Fígado — Pequena deposição de pigmento amarelado em pequenas partículas nas células hepáticas (lipofuscina).
Rim — Bastante precipitados na medular.
Baço — Hemosiderose acentuada. Proliferação do tecido reticular.

Animal n.º 747 (reg. S.A.P. n.º 12 576):
Fígado — Esteatose discreta.
Rim — Bastante precipitados na medular
Baço — Hemosiderose regular.

Animal n.º 748 (reg. S.A.P. n.º 12 577):
Rim — Bastante precipitados na medular. Alguns cilindros hialinos nos túbulos coletores.
Baço — Hemosiderose regular.

Animal n.º 749 (reg. S.A.P. n.º 12 578):
Fígado — Presença de focos de necrose de coagulação.
Baço — Hemosiderose acentuada.
Rim — Bastante precipitados na medular.

Animal n.º 750 (reg. S.A.P. n.º 12 579):
Fígado — Pequenos focos de esteatose na porção mediana do lóbulo. Depósitos de um pigmento fino de côr parda amarelada disposto em grânulos delicados formando massas, sempre ao redor dos núcleos (lipofuscina).
Baço — Hemosiderose acentuada.

A hemosiderose do baço era caracterizada pela presença do pigmento sob forma de grânulos grossos ou massas no citoplasma das células retículo-endoteliais dêste órgão. Em muitos campos a quantidade de hemosiderina era tão grande dentro das células, que mascarava os seus núcleos. Para dar uma noção comparativa da quantidade de hemosiderina neste órgão nos diversos animais por nos examinados, designamos a hemosiderose de acentuada, regular, moderada e discreta, em ordem decrescente de sua quantidade.

Os precipitados do rim eram constituídos por grumos grandes até massas de substância que se corava em vermelho ou preto pela hematoxilina eosina, situados nos tubos uriníferos na porção medular do rim. As reações para cálcio nos cortes de rim foram negativas em todos os casos. Colorações especiais para hemosiderina deram resultados positivos, mas sòmente nos casos em que os precipitados tinham tomado cor preta pela hematoxilina eosina, isto é, nos cortes de rim dos animais n.ºs 745, 747, 748 e 749. O PAS deu reações francamente positivas em todos os casos.

3) *Análises químicas de fígados.*

Os valores de cobalto encontrados foram os seguintes:

Animal n.º	Cobalto *	Animal n.º	Cobalto *
646	0,210	745	0,120
647	0,037	747	0,097
648	0,038	748	0,126
649	0,027	749	0,065
744	0,030	750	0,083

* Valores expressos em partes por milhão de pêso sôbre a matéria sêca.

Em bovinos, com idade de nove meses ou mais, valores abaixo de 0,05 p.p.m. indicam deficiência de cobalto, acima de 0,12 p.p.m. um índice adequado, e valores abaixo de 0,10 p.p.m. indicam subdeficiência de cobalto [12].

IV. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Revendo os nossos resultados, verificamos que os animais n.ºs 647, 648, 649, 744 e 749 eram animais afetados pelo "mal do fastio". Todos êles não tinham saído da região dos canaviais da Serra da Ibiapaba, Ceará, durante aquele ano. Estes são justamente os animais em que foram encontrados os valores mais baixos de cobalto. — Os animais n.ºs 747, 748 e 750 foram abatidos, aparentemente sadios, não tendo mostrado sinais evidentes do "mal do fastio". Todos os três animais tinham passado mais de um ano na Serra da Ibiapaba. Os valores de cobalto no fígado de dois dêstes animais n.ºs 747 e 750, são subdeficientes, enquanto o do terceiro, n.º 748, está no limite inferior dos valores considerados normais.

— Em relação ao animal n.º 745 não chegamos a conclusão, se esteve ou não com a doença. O animal veio do sertão em agôsto, isto é há 3 meses, não se sabendo quanto tempo passou no sertão. O valor de cobalto no fígado dêste animal está no limite inferior dos valores considerados normais. — O animal n.º 646 foi o único que apresentou um valor normal de cobalto no fígado. Êste foi o único, que segundo os informantes passou um tempo mais prolongado (5 mêses) no sertão naquele ano. O animal apresentou à necrópsia uma pericardite adesiva fibrosa.

Examinando o histórico e os nossos achados, verificamos que estamos diante de uma doença em bovinos que ocorre numa região, Serra da Ibiapaba, região da cana, desde que os animais não sejam removidos periòdicamente para outra, o sertão. Os animais podem ficar na Serra durante vários meses sem apresentar qualquer sintoma de doença. Porém se se prolongar êste período, êles começam a apresentar falta de apetite, emagrecimento progressivo, anemia, pêlo áspero, as fezes duras, e finalmente morrem. Os achados de necrópsia e histopatológicos são esteatose hepática e deposição exagerada de hemosiderina no baço e hemosiderose renal.

Tanto o histórico como os sintomas são um índice muito forte de que a causa da doença seja uma deficiência de cobalto [4]. Cunningham [4] diz: "Em áreas severamente deficientes, um histórico de que os ruminantes não sobrevivem a não ser quando mudados periòdicamente para terras sadias, pode ser um bom indício quando associado com sintomas de perda de apetite, emagrecimento e anemia progressiva". Os achados de necrópsia e dos exames histopatológicos por nós esncontrados, também foram descritos nesta deficiência [9, 10, 16].

Não daremos aqui mais informações sôbre os diversos aspectos da deficiência de cobalto em ruminantes, tão pouco sôbre a função do cobalto no organismo. Êstes já foram amplamente tratados na literatura estrangeira [1, 4, 6, 7, 11, 16, 17] e brasileira [2, 3, 18], tendo Corrêa [2, 3] diagnosticado deficiência de cobalto em bovinos no Brasil no Estado de São Paulo.

Sòmente vamos aqui discutir brevemente o seu diagnóstico. A prova mais conclusiva na deficiência de cobalto é baseada na resposta à administração desse elemento [4]. Infelizmente não pudemos realizá-la devido a vários fatôres, o principal sendo o meio desfavorável. Recordamos também que na época do estudo da doença em questão ainda não estavam a nossa disposição as balas de cobalto tão úteis para êste fim [8, 13, 14]. Ajuda de valia para o diagnóstico da deficiência de cobalto pode ser obtida pela análise do solo da região, das pastagens, dos fígados e do conteúdo ruminal dos animais da região [4]. Como a deficiência de cobalto é de fato uma deficiência de vitamina B_{12}, e a determinação desse metal no fígado é indiretamente uma determinação de vitamina B_{12}, é comum hoje se fazerem dosagens de vitamina B_{12} em amostras de fígado [4, 11, 13].

Escolhemos a análise de cobalto em amostras de fígado de animais da região, por se apresentar como o meio mais prático e conclusivo neste estudo. O valor destas análises foi discutido anteriormente [5]. Também foi visto, que o estado de deficiência de cobalto sòmente surge quando as armazenagens de vitamina B_{12} no fígado são esgotadas. O período que decorre até que êsse estado evolui com uma ração deficiente em cobalto, dependerá do tamanho dessas reservas. Êste período conforme se tem verificado, é de alguns meses até um ano. Os valores de cobalto por nos encontrados nas amostras de fígado de bovinos que tinham ficado o último ano na Serra da Ibiapaba, região da cana, foram quase todos baixos.

Considerando o histórico, as nossas observações clínicas, os achados de necrópsia e dos exames histopatológicos, e os valores de cobalto encontrados nas amostras de fígado de animais da Serra da Ibiapaba, região da cana, podemos

concluir, que o "mal do fastio" seja doença causada pela deficiência de cobalto na ração dos bovinos daquela região. Julgamos que pela administração de cobalto aos bovinos dessa região, se pode obter a cura da doença, bem como a sua prevenção.

V. RESUMO

Os autores estudaram uma condição mórbida de etiologia obscura conhecida por "mal do fastio" em bovinos, que ocorre na região canavial da Serra da Ibiapaba, no Estado do Ceará. Êsse estudo consistiu em um levantamento do histórico da doença, em observações clínicas em animais da região, em necrópsias, em estudos histopatológicos dos órgãos de animais necropsiados e em dosagens de cobalto no fígado dêsses animais.

O histórico mostrou, que a doença sòmente aparece em bovinos que ficam na região em apreço durante mais de um ano. Ela pode ser prevenida, levando-se os animais todos os anos, durante alguns meses, durante a época da chuva, a outra região, o sertão. Em 1958 os autores tiveram uma oportunidade especial de estudar a doença, pois devido a uma sêca prolongada no sertão a maioria do gado da Serra não poude ser levada para lá durante mais de um ano, pois morreria ali de fome. Êsse gado na sua maioria estava afetado pela doença em maior ou menor intensidade. O número de mortes foi elevado.

Os sintomas da doença foram falta de apetite, emagrecimento progressivo, anemia, pelo áspero, fezes endurecidas e finalmente morte. Os achados da necrópsia e dos exames histopatológicos foram esteatose hepática e deposição exagerada de hemosiderina no baço e hemosiderose renal. Os valores de cobalto encontrados nos fígados dos 5 bovinos necropsiados, afetados pelo "mal do fastio" foram muito baixos (em 4 abaixo de 0,05 p.p.m.). Em 3 outros bovinos, que não estavam afetados pela doença, que porém tinham permanecido na Serra mais de um ano, os valores de cobalto no fígado eram sudeficientes em dois, no terceiro estava no limite inferior dos valores considerados normais. Em 2 bovinos adicionais, que não tinham ficado na Serra um ano todo, os valores foram em um no limite inferior dos valores considerados normais e no outro normal.

Infelizmente os autores não puderam realizar experimentos para verificar a resposta de animais doentes à administração de cobalto. Apesar disto pensam poder concluir, em virtude do histórico, do quadro clínico e anàtomo-patológico, das lesões histopatológicas observadas e dos baixos valores de cobalto encontrados no fígado dos animais da região, que o "mal do fastio" seja doença causada pela deficiência de cobalto na alimentação dos bovinos daquela região. Julgam que pela administração de cobalto aos bovinos dessa região, se possa obter a cura da doença, bem como a sua prevenção.

VI. AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Dr. Jefferson Andrade dos Santos, Professor Catedrático da Escola Fluminense de Medicina Veterinária e Chefe da Seção de Anatomia Patológica do Instituto de Biologia Animal, pela orientação e ajuda dada no presente trabalho, ao Dr. Fernando Ubatuba, Professor Catedrático da Escola Nacional de Veterinária, pela orientação e ajuda dada na execução das análises químicas, e aos Drs. Julio de Carvalho Fernandes e Sylvio Barbosa Cardoso, Inspetores Chefes da Divisão de Defesa Sanitária Animal, Fortaleza, Ceará, pela colaboração que prestaram na execução do presente trabalho.

COBALT DEFICIENCY IN CATTLE IN THE SERRA DA IBIAPABA, IN THE STATE OF CEARÁ

Abstract

The authors studied a disease, called "mal do fastio" ("lack of appetite disease") in cattle, which occurrs in the sugar cane plantation area of the Serra da Ibiapaba, in the State of Ceará. This study consisted in establishing the history of the disease, in clinical observations of animals of the area, in postmortums, in histopathological examinations of the organs and in the quantitative determinations of cobalt in he livers of bovines of the area.

The history revealed, that the disease affects only bovines which are kept in the area over a year. The disease can be prevented taking the animals every year during a few months, this is during the raining season, to another region, the "sertão". In 1958 the authors had a special opportunity to study this disease. Because of a longlasting draught in the "sertão" most of the cattle of the Serra could not be taken there for over a year, for they would perish there of hunger. Most of this cattle was affected by the disease in variable degrees. Many died.

The symptoms of the disease were lack of appetite, progressive loss of weight, anemia, rough hair coat, hard bowls and finally death. Postmortem findings and the findings of histopathologic examinations were fatty liver and hemosiderine deposits in spleen and kidney. Of the 5 bovines affected by "mal do fastio" on which were performed postmortem examinations, the liver cobalt values were low (in 4 below 0.05 p.p.m.). Of 3 other bovines, which were not affected by the disease, but had been kept in the Serra for over a year, the liver cobalt values were sub-optimal in two and in the third one was on the borderline of those considered normal. Of 2 other bovines, which had not been kept at the Serra a whole year, the liver cobalt value of one was on the bordeline and of the other one was normal.

Unfortunately the authors could not perform experimental cobalt feeding tests on sick animals. But in spite of this, they think that "mal do fastio" is due to a cobalt deficiency in the food of the bovines of that area. This because of the history of the disease, their clinical observations, their postmortem findings, the histopathological lesions they observed and the low liver cobalt values found in animals of this area. The authors think that the disease can be cured and prevented by feeding cobalt to the cattle of this region.

VII. REFERÊNCIAS

1) ALLMAN, R.T. & HAMILTON, T.S. (1948).—*Nutritional Deficiencies in Livestock*. FAO Agricultural Studies No. 5. Rome.

2) CORRÊA, R. (1955).—Carência de cobalto em bovinos no Estado de São Paulo. *Rev. Brasil. Biol., 15* (3): 309-313.

3) CORRÊA, R. (1957).—Carência de cobalto em bovinos. *Arq. Inst. Biol., 24*: 199-227.

4) CUNNINGHAM, I.J. (1955).—Diaseases Caused by Deficiencies of Trace Elements. Em *Advances in Veterinary Science*. Vol. 2. Academic Press Inc., Publishers, New York, pgs. 138-181.

5) DÂMASO, M.N.R. & TOKARNIA, C.H. (1961).—Dados de cobalto em fígado de bovinos e ovinos do Nordeste e Norte do Brasil. *Arq. Inst. Biol. Animal, 4*: 185-194.

6) DAVIS, K.G. (1958).—Metabolic Function and Practical Use of Cobalt in Nutrition. Em *Trace Elements*. Academic Press Inc., New York & London, pgs. 193-211.

7) DE ALBA, J. (1958).—*Alimentación del ganado en la América Latina*. La Prensa Medica Mexicana, México.

8) DEWEY, D.W.; LEE, H.J. & MARSTON, H.R. (1958).—Provision of Cobalt to Ruminants by Means of Heavy Pellets. *Nature, 181*: 1367-1371.

9) FILMER, J.F. (1933).—Enzootic Marasmus of Cattle and Sheep. *Austr. Vet. J., 9* (5): 163-179.

10) FOLLIS, R.H. (1946).—*The Pathology of Nutritional Disease*. Charles C. Thomas, Publishers, Springfield, Illinois, U.S.A.

11) GEE, R.W. (1958).—*Cobalt and Ruminant Nutrition*. Nicholas Institute for Medical and Veterinary Research, "Burnham Beeches", Sherbrooke, Victoria, Australia. 29 pgs.

12) MCNAUGHT, K.J. (1949).—Cobalt, Copper and Iron in the Liver in Relation to Cobalt Deficiency Ailment. *New Zealand J. Sc. Techn., 30* (1) Sect. A: 26-43.

13) SKERMAN, K.D.; SUTHERLAND, A.K.; O'HALLORAN, M.W.; BOURKE, J.M. & MUNDAY, B.L. (1959).—The Correction of Cobalt or Vitamin B_{12} Deficiency in Cattle by Cobalt Pellet Therapy. *Am. J. Vet. Res., 20* (79): 977-984.

14) SUTHERLAND, A.K. (1959).—*Studies on Cobalt Bullet Therapy in Cattle*. Nicholas Institute for Medical & Veterinary Research, Sherbrooke, Victoria, Australia.

15) TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J. & CANELLA, C.F.C. (1959).—Estudo sôbre o "mal dos chifres" em gado no Nordeste e Norte do Brasil. *Arq. Inst. Biol. Animal, 2*: 39-64.

16) UNDERWOOD, E.J. (1956).—*Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. Academic Press Inc., Publishers, New York.

17) UNDERWOOD, E.J. (1958).—Trace Elements in Animals. Em *Trace Elements*. Academic Press Inc., New York & London, pgs. 33-45.

18) VIANA, J.A.C. (1960).—Suplementos minerais para ruminantes. *Bol. Agric. Dep. Prod. Veg. Belo Horizonte, 9* (5-6): 17-44.

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 203-215
1961 — Min. Agricultura, Brasil

INTOXICAÇÃO POR UM "TINGUI" (MASCAGNIA RIGIDA Griseb.) EM BOVINOS NO NORDESTE DO BRASIL *

CARLOS HUBINGER TOKARNIA **, CAMILLO F. C. CANELLA ***
e JÜRGEN DÖBEREINER ****

I. INTRODUÇÃO

Uma das plantas que é mais freqüentemente apontada como sendo tóxica para o gado no Nordeste, é o "tingui" *****. As informações por nós colhidas podemos resumir da seguinte maneira: O gado pode comer a planta à vontade, e até engorda, desde que fique no pasto e não seja movimentado ou tocado. Caso contrário, quando uma boiada, que está num pasto onde existe o "tingui", é agitada ou posta a caminhar, é tido como certo de ocorrerem casos de morte súbita. Quando se quiser tirar gado de um pasto onde existe o "tingui", seria necessário tirar o gado dêsse pasto com todo cuidado, tôda calma, e passar para outro onde não existe essa planta, com o fim de o "desentinguijar", o que levaria de 8 a 14 dias. Após êste período então poderia se mexer com o gado à vontade.

Colhemos material botânico da planta a nós apontada como sendo o "tingui" nos Municípios de Pilar, Estado da Paraíba, e de Maranguape, Estado do Ceará, tendo a identificação botânica ****** revelado tratar-se em ambos os casos de *Mascagnia rigida* Griseb., da família *Malpighiaceae*. A bibliografia referente à toxidez de *M. rigida* é pobre. As informações de Costa [1] e Braga [3] sôbre essa planta são semelhantes às por nós colhidas e acima mencionadas. O último autor aponta como o "verdadeiro tingui" a *M. cartacea* Loetg., dizendo que a *M. rigida* Griseb. seria o "tingui" encontrado nas encostas frescas das serras e serrotes. Ambas teriam as mesmas propriedades tóxicas. Braga [2] em seu artigo "Problemas do Nordeste" diz textualmente: "Experimentando em bezerros, verifiquei que um "timbó", a *Mascagnia rigida,* tem ação hemolítica e provoca lesões no miocardio". Não dá mais detalhes sôbre o assunto.

II. MATERIAL E MÉTODOS

Procuramos observar casos de animais com doença ou morte atribuíveis pelos vaqueiros à ingestão do "tingui". Conseguimos observar dois casos. Por outro lado realizamos uma série de experimentos, administrando a planta (*M. rigida*)

---

* Êste trabalho foi realizado sob os auspícios do Conselho Nacional de Pesquisas.
Entregue para publicação em 6 de dezembro de 1960.

** Veterinário e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

*** Da Inspetoria Regional de Defesa Sanitária Animal em Fortaleza, Ceará, e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

**** Da Seção de Anatomia Patológica do Instituto de Biologia Animal, Rio de Janeiro, e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

***** Segundo Ducke (4): "Tingui" = nome nordestino de diversas plantas ictiotóxicas ou suspeitas de envenenar gado.

****** Feita pelo Prof. Paulo Occhioni da Faculdade de Farmácia da Universidade do Brasil.

por via oral a bovinos em quantidades variáveis e durante períodos também variáveis.

Tanto nos casos naturais como nos experimentais a finalidade era estudos clínicos, anátomo- e histopatológicos e no fim de fazer comparações entre os dois quadros, para verificar se são idênticos.

III. RESULTADOS

1) *Observações de casos naturais.*

O Sr. A.M., proprietário de uma vacaria no Município de Messejana, Estado do Ceará, tinha marcado para o dia 18-6-58 a volta para a sua vacaria de umas 50 vacas suas de um cercado no município vizinho de Pacatuba, onde pastavam há 31 dias. Êsse cercado estava cheio de "tingui" (*M. rigida*). Acompanhamos o gado na sua marcha de poucos quilômetros, do cercado até a vacaria. Essa foi feita de manhã, e bem devagar, pois o calor e correrias aumentariam o perigo de gado morrer no caminho, devido a intoxicação pelo "tingui", que o gado por certo teria comido nesse último mês nesse cercado. Assim se iniciou a marcha às 6 horas da manhã, chegando o gado ao destino às 9 horas. Aproximadamente às 7 horas uma vaca mais idosa andou mais devagar, depois parou, e tremeu em todo corpo por alguns instantes. Após curto repouso foi possível tocá-la de nôvo, mas andava muito devagar e parava constantemente. Foi então deixada onde estava e mais tarde foi buscada com caminhão, chegando bem a vacaria. Aproximadamente às 7,45 h uma outra vaca (bovino n.º 640) avançou de repente para o lado da estrada e caiu, ficando em decúbito lateral fazendo movimentos de pedalagem. Poucos instantes após, em estado agônico, foi ainda sangrada. Antes essa mesma vaca tinha se deitada precipitadamente no meio da estrada por duas vezes. Após um descanso de poucos minutos sempre fora possível fazá-la levantar e continuar a viagem, andando ela, sempre na retaguarda do rebanho. Às 8,45 h outra vaca (bovino n.º 641) caiu de repente, morrendo da mesma maneira como a mencionada antes. Não tinha mostrado quaisquer sinais prévios.

Achados de necrópsia.
Bovino n.º 640: Animal necropsiado 3 horas após a morte. Não foram encontradas lesões. Coletamos fragmentos de órgãos em formol a 10%.

Bovino n.º 641: Animal necropsiado 1 1/2 horas após a morte. Um rim apresentou em sua superfície cêrca de dez áreas retraídas com aproximadamente 1 cm de diâmetro cada. Coletamos fragmentos de órgãos em formol a 10%.

2) *Experimentos.*

Todos os experimentos foram realizados no Pôsto de Criação do Itaperi em Fortaleza, Ceará. Foram feitos 13 experimentos, usando-se 11 bovinos. As quantidades da planta administrada aos diversos animais, bem como a sua procedência, constam no Quadro Único. Queremos ressaltar que a planta foi administrada em diferentes períodos de ano, durante os anos de 1958 e 1959, e assim em diversos estados de seu ciclo vegetativo. Geralmente só eram dadas as fôlhas e galhos finos, mas no fim do ano com algumas flôres e sementes. A planta dada procedia de três municípios. Nos bovinos n.ºs 608, 619, 620, 627 e 636 a planta foi colocada no cocho, misturada com pequena quantidade de capim e resíduo, por causa disso não tendo sido possível determinar eventuais desvios do apetite normal do animal, causados pela ingestão do "tingui". Nos animais n.ºs 731, 733, 734, 767, 768 e 769 todo o "tingui" administrado foi sempre colocado na bôca dos animais, dando-se a alimentação normal (capim e um pouco de resíduo) após,

tendo sido assim possível determinar eventuais desvios do apetite. De vez em quando os animais eram tocados a cavalo durante algum tempo. Ao mesmo tempo que eram realizados esses experimentos, sempre havia no local da experimentação número variável de bovinos mantidos nas mesmas condições de manejo, servindo como controles:

Bovino n.º 608: Garrote com 14 meses de idade. Guernsey. Pêso aproximado 80 kg.
Experimento A: Administração da planta em 5/5/58, colhida um dia antes na Fazenda Iracema, Município de Quixadá, Ceará. Sintomas: (Apetite não foi controlado. Foi tocado no 3.º, 4.º e 5.º dia do experimento.) Não mostrou nada digno de nota.
Experimento B: Administração da planta de 25 a 28/6/58, colhida em dias alternados no Sítio Sumaré, Município de Maranguape, Ceará. Sintomas: (Apetite não foi controlado. Foi tocado no 2.º, 3.º e 4.º dia do experimento.) Não mostrou nada digno de nota. Às 10,30 h do 4.º dia do experimento foi encontrado morto, tendo sido visto pouco antes, sem mostrar nada digno de nota. Animal necropsiado 3 horas após a morte. Achados de necrópsia: Não foram encontrados lesões. Coletamos fragmentos de órgãos em formol a 10%.

Bovino n.º 619: Garrote com 18 meses de idade. Guernsey. Pêso aproximado 120 kg.
Administração da planta de 13 a 17/3/58, colhida em dias alternados inicialmente no Município de Pacatuba, depois no Município de Maranguape, ambos Ceará. Sintomas: (Apetite não foi controlado. Foi tocado no 1.º, 3.º, 4.º, 5.º, 6.º, 8.º e 12.º dia do experimento.) Notou-se que no 10.º dia quase não comeu nada. Do 9.º até o 11.º dia se mostrou mole, porém logo em seguida novamente com comportamento normal.

Bovino n.º 620: Animal com 4 anos de idade. Guernsey. Pêso aproximado 250 kg.
Administração da planta de 14 a 18/3/58, colhida em dias alternados inicialmente no Município de Pacatuba, depois no Município de Maranguape. Sintomas: (Apetite não foi controlado. Nunca foi tocado.) No 6.º dia de manhã observamos que o animal estava com algumas escoriações generalizadas. O nosso ajudante informou que viu o animal de madrugada cair e se debater, logo em seguida se levantando e se comportando como se nada tivesse acontecido. No 7.º dia do experimento o animal amanheceu morto fora da baia onde estava instalado, tendo pulado o muro. Achados de necrópsia: Rigidez cadavérica completa. Abdomen um pouco inchado. Fígado com lobulação nítida. Coletamos fragmentos de órgãos em formol a 10%.

Bovino n.º 627: Garrote com aproximadamente 2 anos de idade. Zebu. Pêso 164 kg.
Administração da planta em 18/6/58, colhida no mesmo dia no Município de Pacatuba. Sintomas: (Apetite não foi controlado. Foi tocado no 2.º, 3.º, 4.º, 6.º e 7.º dia do experimento.) Notou-se que o animal comia pouco da alimentação normal, sòmente começando a alimentar-se normalmente a partir do 11.º dia do experimento. Não foi observado mais nada digno de nota.

Bovino n.º 636: Garrote com 7 meses de idade. Holandês. Pêso aproximado 60 kg.
Administração da planta em 6/7/58, colhida no dia anterior no Sítio Sumaré, Município de Maranguape. Sintomas: (Apetite não foi controlado. Nunca foi tocado.) Amanheceu morto no dia seguinte da administração da planta. Achados de necrópsia: Rigidez cadavérica dos membros posteriores. Abdomen muito inchado. Cadáver relativamente bem conservado. Raros vermes (*Haemonchus sp.*) no coagulador. A última parte do intestino delgado (1,5 m de extensão) com congestão. Coletamos fragmentos de órgãos em formol a 10%.

Bovino n.º 731: Garrote com 18 meses de idade. Mestiço. Pêso aproximado 120 kg.
Administração da planta de 5 a 18/8/58, colhida em dias alternados no Sítio Sumaré, Município de Maranguape. Sintomas: (Apetite foi controlado a partir do 7.º dia do experimento. Foi tocado no 2.º, 3.º, 4.º, 5.º, 6.º, 7.º e 8.º dia do experimento.) Do 7.º até o 17.º dia do experimento, o animal além do "tingui" administrado, não comia mais nada ou quantidades pequenas da alimentação normal. Após êsse período o apetite foi se normalizando, a partir do 39º dia do experimento diminuindo outra vez. No 42.º dia do experimento o animal amanheceu morto. Achados de necrópsia: Autólise adiantada. Não foi coletado material para exames histopatológicos.

Bovino n.º 733: Garrote com 18 meses de idade. Mestiço. Pêso aproximado 110 kg.
Experimento A: Administração da planta em 25/8/58, colhida no mesmo dia no Sítio Sumaré, Município de Maranguape. Sintomas: (Apetite controlado. Foi tocado no 2.º dia do experimento.) No dia da administração da planta e no seguinte o animal não comeu nada, restabelecendo-se o apetite nos dias seguintes ràpidamente. Não foi observado mais nada digno de nota.
Experimento B: Administração da planta em 9 e 10/9/58, colhida em dias alternados no Sítio Sumaré, Município de Maranguape. Sintomas: (Apetite controlado. Foi tocado no 1.º, 2.º e 3.º dia do experimento.) A partir do 1.º dia da administração da planta não comeu mais nada da alimentação normal. Amanheceu morto no 4.º dia do experimento. Achados de necrópsia: Rigidez cadavérica já desaparecida. Autólise adiantada. Não foi coletado material para exames histopatológicos.

Bovino n.º 734: Garrote com 18 meses de idade. Mestiço. Pêso aproximado 120 kg. Administração da planta de 12/8 a 2/9/58, colhida em dias alternados no Sítio Sumaré, Município de Maranguape. Sintomas: (Apetite controlado. Foi tocado no 5.º, 6.º, 7.º, 8.º, 9.º, 10.º, 11.º, 12.º, 13.º, 15.º, 16.º, 17.º, 18.º e 20.º dia do experimento.) Não foi verificada uma modificação apreciável do apetite. No 11.º dia do experimento o animal se apresentou apático, não querendo correr quando tocado. De dia a dia essa depressão foi se acentuando, a partir do 20.º dia do experimento o animal não querendo mais nem andar. Amanheceu morto no 23.º dia do experimento. Achados de necrópsia: Cadáver bem conservado. Hepatização dos pulmões na sua porção crânio-ventral com a presença de pequenos abcessos. Atrofia hidrópica da gordura perirenal. Coletamos fragmentos de órgãos em formol a 10%.

Bovino n.º 767: Garrote com 14 meses de idade. Holandês mestiço. Pêso 103 kg. Administração da planta de 5/8 a 4/9/59, colhida em dias alternados no Sítio Sumaré, Município de Maranguape. Sintomas: (Apetite controlado. Foi tocado no 14.º, 31.º e 32.º dia do experimento.) Nos primeiros quatro dias do experimento houve uma pequena diminuição de apetite, normalizando-se êste nos dias seguintes. Além de uma depressão geral, não mostrou mais nada digno de nota.

Bovino n.º 768: Garrote com 12 meses de idade. Mestiço. Pêso 80 kg. Administração da planta de 5 a 7/8/59, colhida em dias alternados no Sítio Sumaré, Município de Maranguape. Sintomas: (Apetite controlado. Nunca foi tocado.) Nos primeiros dois dias houve pequena diminuição do apetite, no 3.º dia do experimento não comeu nada além do "tingui" administrado. Amanheceu morto no 4.º dia do experimento. Achados de necrópsia: Rigidez cadavérica completa. Estado de conservação do cadáver bom. No intestino grosso nos primeiros 20 cm numerosos vermes (*Oesophagostomum sp.*) e pequena quantidade de sangue coagulado. Coletamos fragmentos de órgãos em formol a 10%.

Bovino n.º 769: Garrote com 10 meses de idade. Mestiço. Pêso 71 kg. Administração da planta de 5/8 a 4/9/59, colhida em dias alternados no Sítio Sumaré, Município de Maranguape. Sintomas: (Apetite controlado. Foi tocado no 14.º, 31.º e 32.º dia do experimento.) Nos primeiros cinco dias houve uma pequena diminuição do apetite, normalizando-se êste nos dias seguintes. Além de uma depressão geral, não mostrou mais nada digno de nota. Em 10/9/59 o animal amanheceu morto. Achados de necrópsia: Cadáver em putrefacão. Não foi coletado material para exames histopatológicos.

3) *Exames histopatológicos.*

Casos naturais.

Bovino n.º 640 (registrado na Seção de Anatomia Patológica sob o n.º 12 301).
Coração: No miocárdio infiltrados grandes difusos por células linfo-histiocitárias. Edema entre as fibras musculares. Vacuolisação, em certos campos acentuada, de fibras musculares. Granulação fina eosinófila com perda da estriação transversal em grande número de fibras. Estas alterações do citoplasma são acompanhadas por processos degenerativos do núcleo, traduzidos por irregularidades de seu contôrno, seu desaparecimento parcial e às vêzes condensação de sua cromatina. (Figs. 2 e 3).
Baço: Hemosiderose moderada.

Bovino n.º 641 (reg. S.A.P. números 12 302 e 12 303).
Coração: Infiltrados moderados difusos por células linfo-histiocitárias no miocárdio. Edema entre as fibras musculares. Vacuolisação, em certos campos acentuada, das fibras musculares. (Figs. 4 a 6).
Rim: Grandes focos de infiltração linfocitária na cortical.
Fígado: Pequenos infiltrados de células mononucleares no espaço porta e no parênquima. Tumefação turva.

Casos experimentais.

Bovino n.º 608 (reg. S.A.P. números 12 293 a 12 296).
Coração: Pequenos infiltrados linfocitários no miocárdio. Fibras musculares com vacuolização. Granulação fina eosinófila com perda da estriação transversal em grande número de fibras, outras hialinizadas e com núcleos com sua cromatina condensada (degeneração ou necrose de Zenker). (Figs. 7 a 9).
Rim: Pequenos focos de infiltração linfo-histiocitária no tecido intersticial.
Fígado: Pequenas áreas com células hepáticas vacuolizadas.

Bovino n.º 620 (reg. S.A.P. n.º 12 171).
Coração: Pequenos infiltrados linfocitários no miocárdio.

Bovino n.º 636 (reg. S.A.P. n.º 12 441).
Coração: Vacuolização acentuada das fibras musculares.
Fígado: Células hepáticas com o seu citoplasma de aspecto escumoso.

Bovino n.º 734 (reg. S.A.P. números 12 459 a 12 463).
Coração: Vacuolização acentuada das fibras musculares. Granulação fina eosinófila com perda da estriação transversal em fibras musculares, outras hialinizadas e com núcleos com sua cromatina condensada.
Rim: Algumas células epiteliais dos túbulos uriníferos com núcleo picnótico e com vacúolos em seu citoplasma.
Pulmão: Broncopneumonia necrótica.

Bovino n.º 768 (reg. S.A.P. n.º 13 098).
Coração: Vacuolização discreta das fibras musculares.

IV. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Conseguimos observar dois casos naturais de doença em bovinos, atribuídos pelos vaqueiros à ingestão do "tingui", e que em tudo, no histórico e na sintomatologia, estavam de acôrdo com as informações anteriormente obtidas a respeito. O rebanho a que pertenciam os dois bovinos tinha ficado 31 dias em um cercado, que estava cheio de "tingui", *Mascagnia rigida,* e durante a marcha dêsse cercado para uma vacaria afastada poucos quilômetros, esses dois animais morreram sùbitamente. Os achados de necrópsia foram negativos, o que também está de acôrdo com as informações obtidas. Muito interessantes foram os achados histopatológicos. Revelaram uma miocardite difusa, caraterizada por infiltrados linfo-histiocitários, edema e processos degenerativos nas fibras musculares.

Realizamos 13 experimentos em 11 bovinos com *M. rigida, consistindo* esses na administração da planta por via oral, em quantidades variáveis e durante períodos variáveis. Nesses experimentos 8 bovinos morreram, todos de morte súbita (bovinos n.ºs 608, 620, 636, 731, 733, 734, 768 e 769), podendo-se dizer de surprêsa, os animais não tendo mostrado sinais evidentes de uma intoxicação durante algum tempo antes, que indicasse a morte próxima. Os únicos sintomas observados durante os nossos experimentos devido a ingestão da planta consistiram numa diminuição até perda de apetite e depressão, mas esses não ocorreram em todos os animais que morreram, e ocorreram também em animais que não morreram. Em nossos experimentos não conseguimos demonstrar alguma ação nociva em movimentar os animais, pelo menos não houve mortes súbitas de animais enquanto tocados. Os bovinos n.ºs 620, 636 e 768 nunca foram tocados e morreram como os outros, os bovinos n.ºs 608 B, 731, 733 B, 734 e 769, que foram tocados, mas dêstes nenhum morreu enquanto tocado. Os que sobreviveram, os bovinos n.ºs 608 A, 619, 627, 733 A e 767, todos foram tocados.

Temos que chamar a atenção para o fato, que em nossos experimentos não foi possível manter os animais em movimento por muito tempo, pois êsses se recusavam a andar após terem sido tocados por algum tempo. Não pudemos fixar a quantidade da planta que matasse um bovino, por ter sido essa muito variável em nossos experimentos, como se pode ver no Quadro Único. Quantidades muito maiores àquelas que mataram certos bovinos, não causaram a morte de outros. Os achados de necrópsia em alguns animais foram completamente negativos, nos animais restantes se restringiram à lesões que não podiam ser correlacionadas com a intoxicação pela *M. rigida,* ou que pudessem ser responsabilizadas pela morte do animal. Os exames histopatológicos revelaram de importante também lesões cardíacas, porém estas eram menos acentuadas que nos casos naturais.

Comparando os dois quadros, o natural com o experimental, verificamos que têm muito em comum e algumas diferenças. Êles têm em comum: 1.º) Ausência

de uma sintomatologia nítida, 2.º) morte súbita, 3.º) achados de necrópsia negativos e 4.º) alterações histopatológicas do miocárdio. As diferenças são: 1.º) Em casos naturais, segundo as informações e como tivemos a oportunidade de verificar em dois casos, a morte do animal se dá sòmente quando o animal é tocado. Em nossos experimentos não pudemos observar uma correlação entre tocar o animal e a sua morte. 2.º) As alterações cardíacas nos dois casos naturais por nos estudados eram mais acentuadas do que nos casos experimentais.

Considerando-se em conjunto todos os fatôres, pensamos poder concluir que os casos naturais realmente sejam devido a intoxicação pela *M. rigida,* apesar das diferenças apontadas entre os quadros natural e experimental. Em relação às lesões microscópicas do miocárdio, essa diferença pode ser explicada. Smith e Jones[5] dizem que na miocardite tóxica, muito freqüentemente a causa imediata da morte em doenças infecciosas bem como em muitas intoxicações, o coração mostra poucas alterações microscópicas. Sòmente se o tempo permitir, tendem a aparecer tumefação turva, outras lesões degenerativas e necrose, e se a condição persistir por certo número de dias, pode haver ainda o desenvolvimento de infiltrações linfocitárias e outros infiltrados de natureza inflamatória (inflamação alterativa). A respeito da correlação entre movimentação do animal e a sua morte, que é relatado e que foi por nós observada nos dois casos naturais, e que não vimos nos casos experimentais, não podemos dar uma explicação fundamentada, porém julgamos essa diferença ser insuficiente para pensar em fatôres etiológicos diferentes para a evolução dos dois quadros.

V. RESUMO

Os autores procuraram observar casos naturais de morte em bovinos atribuídos pelos vaqueiros à ingestão do "tingui". Conseguiram observar dois casos. Por outro lado realizaram uma série de experimentos que consistiram na administração por via oral da planta *Mascagnia rigida* Griseb., família *Malpighiaceae,* um "tingui", a bovinos em quantidades variáveis e durante períodos também variáveis, para ver se conseguiam reproduzir o quadro natural observado. Nos 13 experimentos realizados com 11 bovinos, 8 morreram. Tanto nos casos naturais como experimentais fizeram observações clínicas e estudos anátomo- e histopatológicos. As mortes sempre foram súbitas, tanto nos casos naturais como experimentais, e os achados de necrópsia não revelaram lesões atribuíveis à intoxicação. Nos exames histopatológicos foram observadas lesões cardíacas, bem evidentes em ambos os casos naturais e menos acentuadas nos casos experimentais. Comparando os dois quadros, o natural e o experimental, os autores chegaram a conclusão que os casos naturais realmente sejam devido a intoxicação pela *M. rigida,* devido a grande semelhança entre os dois quadros, ou seja ausência de sintomatologia nítida, morte súbita, achados de necrópsia negativos, e presença de lesões microscópicas do miocárdio. Acham que podem tirar esta conclusão apesar de haver também diferenças entre os dois quadros ou seja as lesões cardíacas serem mais acentuadas nos casos naturais e, nos casos experimentais aparentemente não existir nenhuma correlação entre a movimentação do animal e a sua morte, o que ocorre em casos naturais.

VI. AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Prof. Jefferson Andrade dos Santos, Chefe da Seção de Anatomia Patológica do Instituto de Biologia Animal e Catedrático da Escola Fluminense de Medicina Veterinária, pela ajuda e orientação dadas durante o presente trabalho, ao Prof. Paulo Dacorso Filho, Catedrático da Escola Nacional

de Veterinária, pela orientação dada na interpretação das lesões microscópicas do miocárdio, ao Prof. Paulo Occhioni, Catedrático da Faculdade de Farmácia da Universidade do Brasil, pela identificação de material botânico coletado durante o nosso estudo, ao Dr. Júlio de Carvalho Fernandes, antigo Inspetor Chefe da Inspetoria Regional de Defesa Sanitária Animal em Fortaleza, Ceará, e ao Dr. Jeremias Pereira, antigo Inspetor Chefe da Inspetoria Regional de Fomento da Produção Animal em Fortaleza, Ceará, pela valiosa colaboração que prestaram durante os nossos trabalhos experimentais.

POISONING BY A "TINGUI" (*MASCAGNIA RIGIDA* GRISEB.) IN BOVINES IN THE NORTHEAST OF BRAZIL

Abstract

The authors searched for natural cases of animals sick or dead due to the supposed ingestion of "tingui" (= name given in the Northeast of Brazil to different plants, which poison fish or are suspected to be poisonous to cattle). They were able to observe two cases.

On the other hand they performed experiments, which consisted in the oral administration of variable amounts of the plant *Mascagnia rigida* Griseb., of the family *Malpighiaceae,* a "tingui" to bovines in order to see if this plant reproduces the natural condition. In the 13 experiments performed with 11 bovines, 8 died.

In both, the natural and the experimental cases, the authors made clinical observations and anatomic-histopathological studies. Deaths were always sudden, both in the natural as well in the experimental cases, and the postmortums revealed no lesions, which could be ascribed to the poisoning. In the histopathological studies heart muscle lesions were found, which were very evident in the two natural cases and less pronounced in the experimental cases.

Comparing the findings of the two natural cases and those of the experimental cases, the authors conclude that the natural cases indeed are due to the poisoning by *M. rigida,* due to the great similarity between them, this is no clear symptomatology, sudden death, negative postmortem findings, microscopic lesions in the heart muscle, in spite that there are differences, which are that the microscopic lesions in the heart muscle are more evident in the natural cases and that in the experimental cases apparently there was no correlation between exercising of the animal and its death, as occurring in natural cases.

VII. REFERÊNCIAS

1) ALMEIDA COSTA, O. (1949).—Plantas tóxicas para o gado. *Rev. Flora Medicinal, 16* (1): 1-13. Transcrito em *Res. Vet., 2* (5-6): 1-14.

2) BRAGA, J.W. (1951).—Problemas de Veterinária no Nordeste do Brasil. *Anais V Congr. Bras. Vet.,* pgs. 71-96.

3) BRAGA, R. (1960).—*Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará.* 2.ª ed. Imprensa Oficial, Fortaleza, Ceará, Brasil.

4) DUCKE, A. (1959).—Estudos botânicos no Ceará. *An. Ac. Bras. Ciências, 31* (2): 211-308.

5) SMITH, H.A. & JONES, T.C. (1957).—*Veterinary Pathology.* Lea & Febiger, Philadelphia.

QUADRO ÚNICO

Quantidades da planta administradas em kg

Número do bovino	Período de administração	1.º	2.º	3.º	4.º	5.º	6.º	7.º	8.º	9.º	10.º	11.º	12.º	13.º	14.º	15.º	16.º	17.º	18.º	19.º	20.º	21.º	22.º	23.º	24.º	25.º	26.º	27.º	28.º	29.º	30.º	31.º ...37.º ...42.º Dia do experimento		
608 A	5/5/58	7,5																																
608 B	25–28/6/58	2	5	2	+																													
619	13–17/3/58	2	5	4	4,5	3																												
620	14–18/3/58	2	5	5	3	6		+																										
627	18/6/58	3																																
636	6/7/58	3	+																															
731	5–18/8/58	1	5	2	1	1	2	2	3		3	2,5	2,5	4																				+
733 A	25/8/58	4																																
733 B	9–10/9/58	4,5	1,5		+																													
734	12/8–2/9/58	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	+										
767	5/8–4/9/59	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5		
768	5–7/8/59	0,4	0,4	0,4	+																													
769	5/8–4/9/59	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	+	

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 203-215
1961 — Min. Agricultura, Brasil

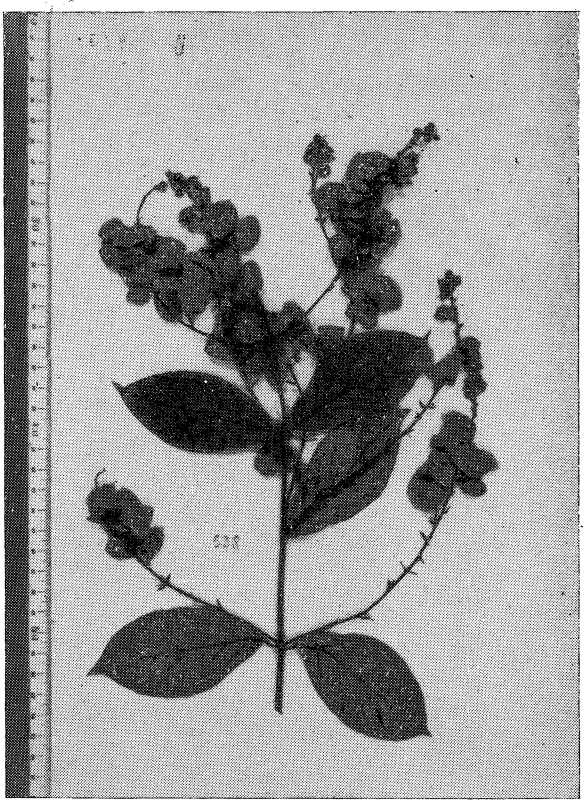


Fig. 1: *Ramo do "tingui"* (Mascagnia rigida *Griseb.*) *com flores e sementes.*

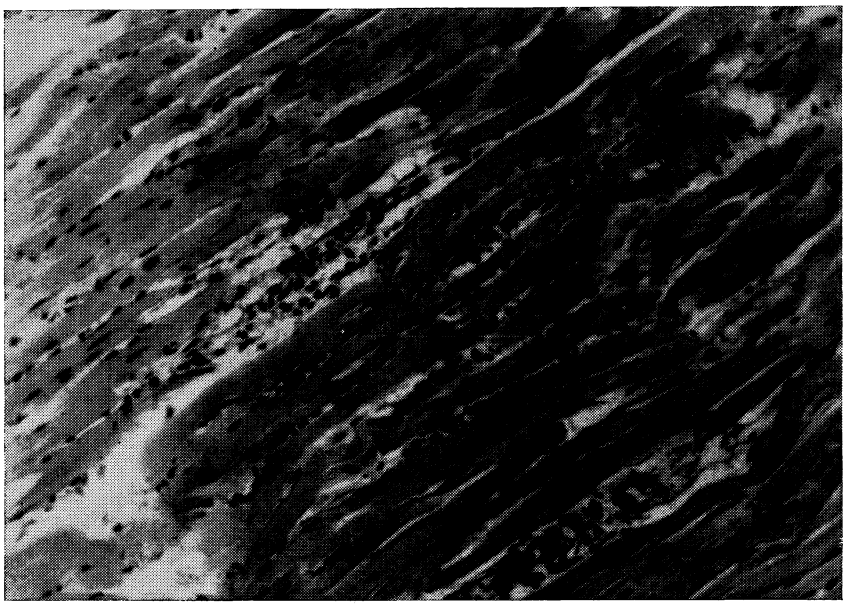


Fig. 2: *Infiltrados difusos por células linfo-histiocitárias e vacuolisação de fibras musculares no miocárdio de caso natural (bovino n.º 640). H.-E. Obj. 20.*

Fig. 3: *Vacuolisação de fibras musculares no miocárdio de caso natural (bovino n.º 640). H.-E. Obj. 45.*

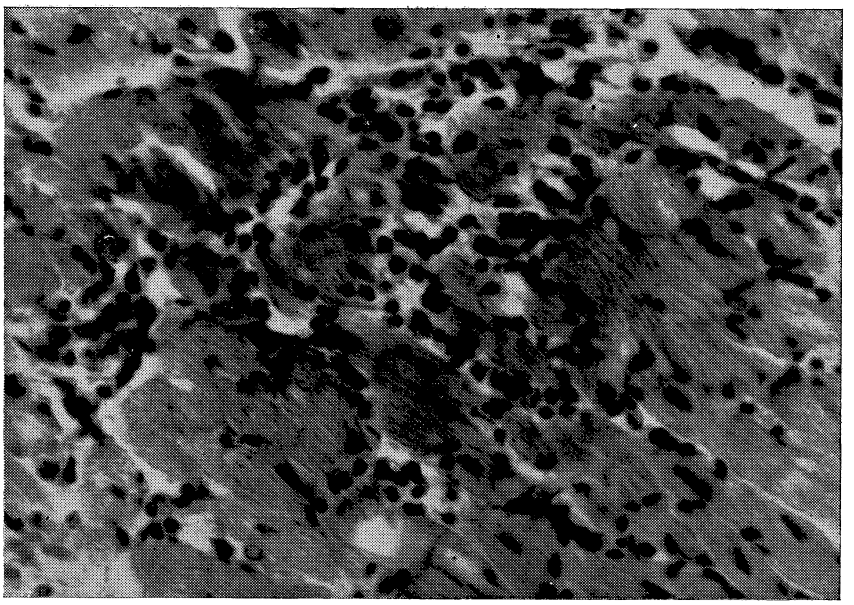


Fig. 4: *Infiltrados por células linfo-histiocitárias no miocárdio de caso natural (bovino n.º 641). H.-E. Obj. 45.*

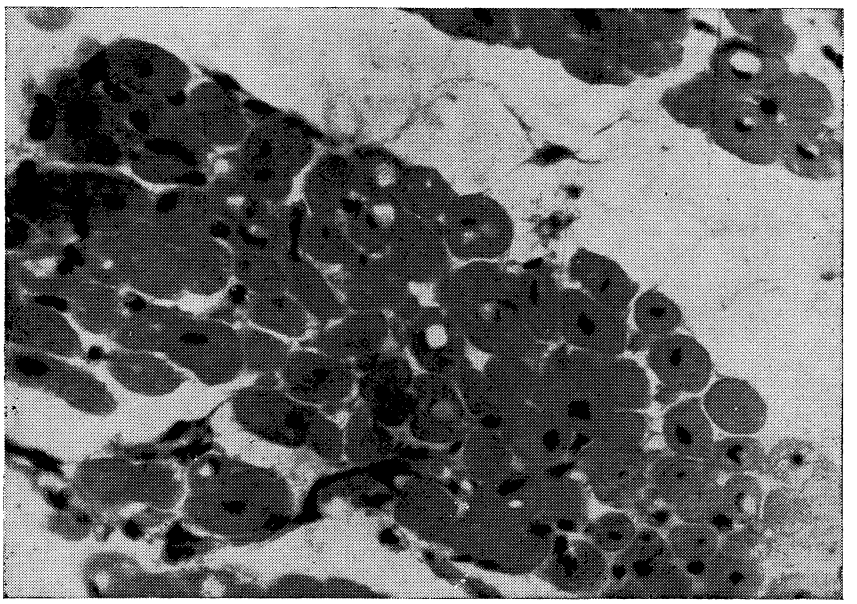


Fig. 5: *Vacuolisação de fibras musculares no miocárdio de caso natural (bovino n.º 641). H.-E. Obj. 45.*

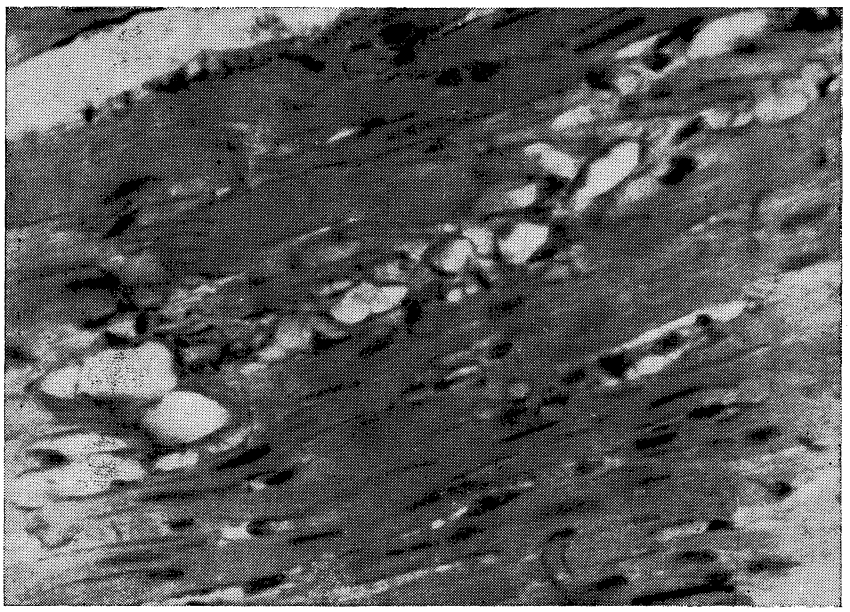


Fig. 6: *Vacuolisação de fibras musculares no miocárdio de caso natural (bovino n.º 641). H.-E. Obj. 45.*

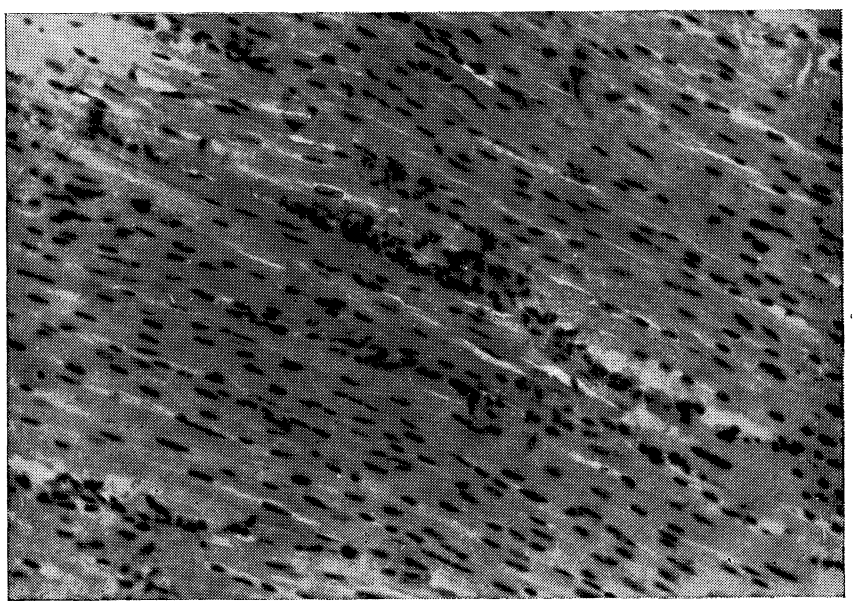


Fig. 7: *Infiltrados linfocitários no miocárdio de caso experimental (bovino n.º 608). H.E. Obj. 20.*

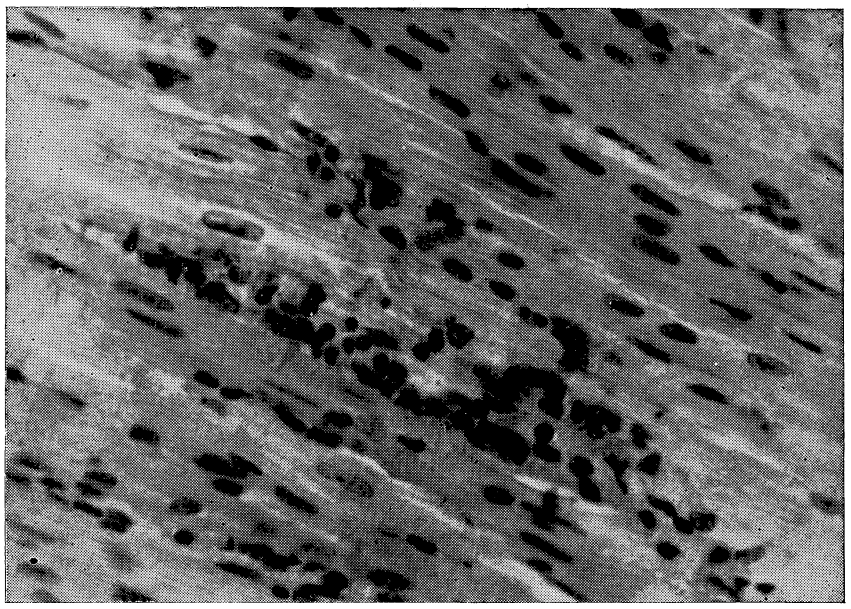


Fig. 8: *Infiltrados linfocitários no miocárdio de caso experimental (bovino n.º 608). H.-E. Obj. 45.*

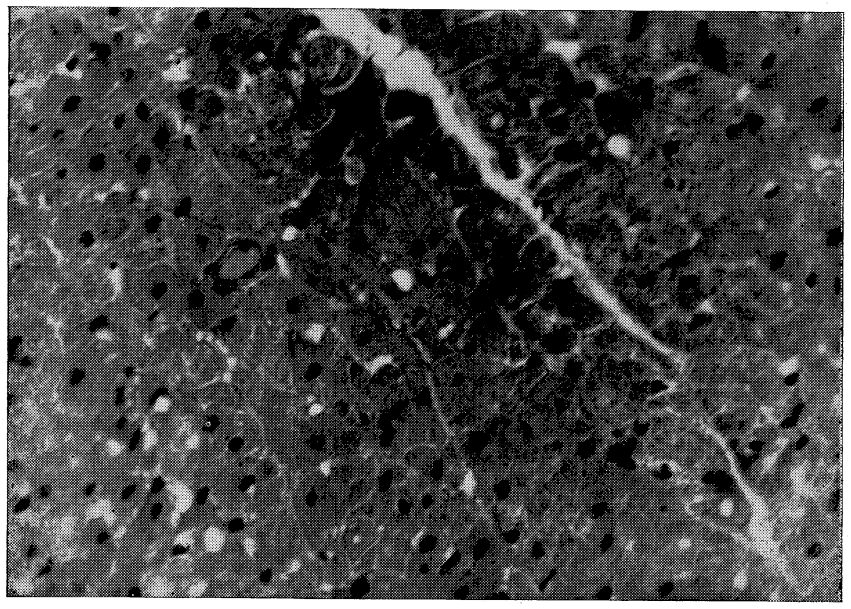


Fig. 9: *Vacuolisação de fibras musculares no miocárdio de caso natural (bovino n.º 608). H.-E. Obj. 45.*

Arq. Inst. Biol. Animal, 4: 217-223
1961 — Min. Agricultura, Brasil

VALOR DE CRESCIMENTO DA TORTA DE MAMONA

DJALMA NOVAES *

I. INTRODUÇÃO

O emprêgo cada vez maior do óleo de mamona na medicina e na indústria vem promovendo a ascenção da sua produção e comercialização.

Conhecido usualmente como óleo de rícino, é obtido da expressão das smentes do *Ricinus communis,* plnta conhecida por mamona, rícino ou carrapateira.

O vocábulo rícino origina-se do latim "Ricinus" que designava o carrapato *Ixodes ricinus,* dada a semelhança da semente com a fêmea adulta.

Nos países de língua inglêsa o óleo é conhecido como "Castoroil".

A planta é uma euforbiácea, de porte variável do arbustivo ao de uma árvore, conforme o clima em que medra e a variedade genética. Suas flôres são monóicas, reunidas em cachos, e, o seu ciclo é anual.

Os frutos são cápsulas espinhosas ou inermes, contendo sementes oleaginosas produzindo mais de 40% de óleo, chegando em algumas variedades a cifra de 60%.

O BRASIL, pelas suas características climáticas tem a primazia na produção mundial, destacando-se os estados do Nordeste e São Paulo.

Como sub-produto da indústria oleífera resulta a torta de mamona ou torta de rícino, até pouco tempo aproveitada apenas como adubo; todavia, o seu elevado teor em protídios incitou pesquisas no sentido de usá-la na alimentação animal.

Um grande óbice vinha retardando esta utilização: a presença de princípios tóxicos. Felizmente, a técnica já conseguiu suprimir a toxidez, e, recentemente apareceu no mercado um produto detoxicado.

O Instituto de Tecnologia do Ministério da Indústria e Comércio também já conseguiu um produto atóxico, pelo esfôrço dos seus competentes técnicos que, dêsse modo, colaboram no sentido de suprimir-se o monopólio favorecendo a expansão de um nôvo recurso alimentar, de grande significação na economia nordestina.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Wooldridge e White [14] — relatam envenenamento em cavalos por alimentos contendo mamona. Os sintomas aparecem 12 a 48 horas após a ingestão e traduzem-se por cólicas, disfagia, diarréia, vômitos, elevação de temperatura, fraqueza, incordenação, pulso fraco, respiração superficial, ereção do penis (cavalo) e do clitóris (égua), espasmos musculares.

Clarke [1] — trata do envenenamento por sementes de mamona desenvolvendo o assunto das doses limites nas várias espécies, os sintomas e o tratamento chamando atenço sôbre a maior sensibilidade do cavalo; mostra as propriedades antigênicas da ricina como toxina semelhante às toxinas bacterianas.

* Do Instituto de Biologia Animal.

Jones [5] — estuda a preparação e as propriedades da proteína da torta, demonstrando serem duas globulinas e uma proteose.

Geary [3] — relata envenenamentos fatais em vacas, porcos e galinhas alimentados com misturas contendo torta de mamona descascada; descreve a sintomatologia e o exame "post-mortem".

Juillet, Susplugas e Courp [6] — classificam o rícino como oleaginosa industrial; informam que a ricinina foi isolada em 1864 por Tusson e que a sua constituição alcaloídica é 3 — ciano — 4 metoxil — 1 — metil — 2 — piridona, de acôrdo com Spaeth e Koller, estando presente no grão em 0,15%. Segundo os mesmos autores, a ricina é outra substância tóxica, uma fitotoxina semelhante a abrina do *Abrus precatorius;* uma terceira substância, isolada em 1923 por Ratner e Bernard é o ricinoalérgeno, não tãxico mas que por penetração transcutânea ou bronquica provoca uma sensibilização pesquisada por cuti-reação (urticária, linfangite, eosinofilia e elevação de temperatura). Avaliam as doses mortais da torta, por quilo de pêso, em 2,5 gramas para o carneiro, 3,0 gramas para o boi e o cavalo e, 5,0 — 6,0 gramas para o porco.

Kadras e col. [7] — em um estudo com a torta determinam a eficiência de vários processos de detoxicaão e realizam testes de valor biológico em ratos e pintos.

Morrison [8] — em seu conhecido livro diz serem tóxicas as sementes e a torta de mamona e refere a existência de estudos nas estações experimentais de Nebraska e Oklahoma para a obtenção da torta atóxica.

Waller e Negi [13] — atribuem o malefício da torta de rícino aos fatôres ricina (proteína) e ricinina (alcalóide) sendo o primeiro muito tóxico. Assinalam que o fator alergisante é um complexo proteína — polisacarídeo e referem-se aos processos de detoxicação.

Raimo [11] — preceitua o uso da torta detoxicada na alimentação de pintos até 15% da ração.

Jacquot e Ferrando [4] — incluem-na na classe das tortas não alimentícias, por conter ricina, substância tóxica. Relatam que diferentes processos para eliminação do "veneno" têm sido propostas para torná-la comestível e que nenhum generalizou-se.

Costa e Laun [2] — realizam um bem conduzido trabalho experimental com a torta de mamona detoxicada em níveis variáveis até 20%, concluindo ser satisfatório o seu uso nas rações de pintos em crescimento e que o melhor resultado é obtido usando-a na taxa de 10%.

II. OBJETIVO DA PESQUISA

Procuramos verificar a eficiência dos procedimentos de detoxicação em duas amostras tratadas por métodos diferentes: aquecimento pelo vapor d'água durante 30' e refluxo com soda a 1% no tempo de 30'. Ao mesmo tempo buscamos testar o valor de crescimento do protídio nelas existente.

III. MATERIAL E MÉTODOS

Usamos 14 ratos albinos Spraegue — Dowley, da colônia que mantemos na Escola Nacional de Veterinária.

Os animais foram mantidos em gaiolas com piso de tela sem acesso às fezes, e, submetidos a uma ração calculada rigorosamente de maneira que as tortas em experiência constituissem a única fonte de protídio e na taxa de 10%. Água "ad libitum".

As rações tinham as seguintes composições:

COMPONENTES	Ração A	Ração B
Torta C.B.O	28,23	———
Torta S.A. 1	———	29,47
Amido de trigo	46,77	45,53
Manteiga	15,00	15,00
Levedura de cerveja	5,00	5,00
Mistura salina O.M	4,00	4,00
Óleo de fígado de cação	1,00	1,00
TOTAL	100	100

A torta C.B.O foi tratada pelo vapor; a S.A.1 pelo álcali. Ambas foram fornecidas por gentileza do Dr. João Perrone, competente químico do Instituto de Tecnologia mencionado, a quem agradecemos; eram de côr cinza escuro, com alguns fragmentos pretos de casca, aspecto sêco e pulverulento, sem odor. Segundo análise do referido Instituto tinham os seguintes percentuais protídicos:

Torta C.B.O — 35,43%
Torta S.A.1 — 33,90%

O método usado na determinação do valor de crescimento foi o clássico de Osborne, Mendell e Ferry [10] durante a experiência 60 dias, durante os quais controlou-se diàriamente, o alimento fornecido, o ingerido, o rejeitado e, bem assim, realizou-se pesagens semanais dos animais.

RESULTADOS

No quadro abaixo e no gráfico anexo acham-se os resultados obtidos:

FONTE PROTÍDICA	Taxa protídica	Pêso inicial do lote	Pêso final do lote	Ganho de pêso	Ganho por rato e p/ dia	Alimento ingerido	Valor de crescimento
Torta C.B.O	10%	274	953	679	1,6	3,144	2,1
Torta S.A. 1	10%	300	916	616	1,4	3,237	1,9

IV. DISCUSSÃO

Na avaliação do valor nutritivo das duas amostras de torta de mamona neste ensaio, com base nos resultados podemos afirmar, em primeiro lugar, não serem tóxicas.

De fato, não verificamos qualquer sinal que denunciasse doença em qualquer dos 14 ratos usados; não ocorreu nenhum caso de morte, fatos que garantem a inocuidade dos alimentos usados, podendo-se concluir pela excelência dos processos de detoxicação usados.

Vale assinalar que Raimo [11] aconselha até o limite de 15% da ração de pintos e, Costa e Laun [2] realizando o seu experimento com outra torta detoxicada (Lex proteico) encontrado no comércio, usaram níveis variáveis até o máximo de 20%. Nêste experimento em ratos usamos 28,23% e 29,47%, percentagens mais elevadas.

O consumo das rações foi relativamente baixo, em razão da fraca palatabilidade. A cifra de 455,7 gramas por cabeça durante o período de 60 dias,

foi bem inferior à que obtivemos em outro ensaio com a caseina (661,18), babaçu (834,12) e algodão (792,56).

O valor de crescimento calculado por grama de protídio ingerido foi de 2,1 e 1,9, nas duas amostras.

Não conhecemos entre nós qualquer trabalho nêste terreno realizado com a torta de mamona, nem pelo método de balanço (equilíbrio nitrogenado), o que nos permitiria uma comparação já que os dois métodos equivalem-se.

No trabalho de Waller e Negi [13] os autores, baseados em dados analíticos de aminoácidos obtidos de Kodras assinalam que a proteína da torta é deficiente em triptófano e tem baixos valores em metionina e lisina, o que justifica o desenvolvimento sub-normal dos ratos que encontramos.

Kodras e col. [7] fazendo o seu estudo sôbre o provável uso da torta como alimento ensaiaram em animais, diversas tortas em níveis de 5% e 10%. Nas tortas não detoxicadas confirmou-se a mortalidade; nas detoxicadas o efeito variou com os diversos tratamentos (autoclave, calor sêco, resfriamento, tratamento com álcali). Em alguns grupos ocorreram mortes até 4 animais, o que demonstra a excelência dos métodos usados nas duas amostras fornecidas pelo Instituto de Tecnologia pois, em nosso grupo de 14 animais, maior que o dos autores americanos e usando quantidades muito maiores, não tivemos mortes nem aparente alteração da saúde, exceto dermatose que ocorreu num rato.

O experimento do valor biológico que realizaram em ratos e pintos foi incompleto, abrangendo um curto período de 16 dias, sem os necessários contrôles semanais e cálculos complementares. Usando as cifras que encontraram (consumo médio de 143,0 de ração e ganho em pêso de 26,5) calculamos o valor do crescimento por grama de alimento em 0,185, o que daria um valor de proteína correspondente a 1,8, pouco inferior ao que achamos, sem considerar que, provàvelmente, a taxa de protídeo usado foi maior.

Em outro ensaio em ratos e pintos usaram níveis de 11,60%, 23,20% e 34,80% da torta na alimentação de ratos, e, níveis de 8,7%, 17,40% e 34%, com pintos. A alimentação foi "ad-libitum", desconhecendo-se o número de animais e o consumo do alimento, o que impede o cálculo dos respectivos valores.

Usando as cifras obtidas com outras tortas e alimentos contidas no livro de Jacquot e Ferrando [4] e, tomando o ovo total como padrão, teremos o seguinte escalonamento dos protídios pelo seu valor:

PROTÍDIO	Valor de crescimento
Ovo inteiro	3,8
Girassol J	2,6
Caseina J	2,5
Soja	2,3
Babaçu JJ	2,3
Algodão JJ	2,1
Mamona	2
Côco	2
Palma	2
Amendoin	1,9
Linho	1,9
Carne	3,2
Leite sêco	2,9
Trigo	1,5
Milho	1,2

J Cifras de Rombauts (13)
JJ Cifras de Novaes (14)

A segunda afirmativa é que o valor de crescimento da torta de mamona é de categoria média, inferior ao de algumas tortas de ótimo valor (soja, girassol, babaçu) e aos alimentos de origem animal, todavia, superior ao de outras tortas e ao dos cereais.

Infelizmente não dispuzemos de recursos para a determinação dos aminoácidos indispensáveis, o que nos daria elementos para comparação com outras tortas e para os cálculos das suas possibilidades de suplementação.

A análise do pêso final dos ratos não acusou diferenças significativas entre os dois tipos de torta de mamona pesquisados.

Foi feita a análise da covariância para eliminar a possível influência dos diferentes pesos iniciais dos ratos, ficando comprovado que os dois tipos de tortas usadas não diferem significativamente.

V. CONCLUSÃO

As duas amostras de torta de mamona examinadas mostraram-se isentas de toxidez nas taxas de 28,23% e 29,47% da ração dos ratos.

Revelaram baixa palatabilidade, todavia, como única fonte de protídio, êste no teor de 10% da dieta, asseguram a vida e um crescimento deficitário, sendo o valor biológico (de crescimento) médio igual a 2, segundo o método clássico dos pesos. Os dois tipos de torta usados não diferem significativamente.

VI. RESUMO

O autor experimentou duas amostras de torta detoxicada de mamona (*Ricinus communis*) na alimentação de ratos Spraegue — Dowley para verificar inocuidade e valor de crescimento.

Foram alimentados 14 animais durante 60 dias com rações contendo 28,23% e 29,47% do alimento e 10% de protídios.

As tortas mostraram-se atóxicas, e a eficiência protídica calculada pelo método de Osborne e Mendell foi de 2,1 e 1,9 para os tratamentos com vapor e álcali, respectivamente.

A palatabilidade verificada foi fraca.

THE GROWTH-PROMOTING VALUE OF CASTOR SEED MEAL

Abstract

The author made trial in two samples of the castor seed meal detoxicated (*Ricinus communis*) in the feeding of Spraegue — Dowley rats to confirm the innocuous action and the growth-promoting value.

Were feedings 14 animals during 60 days with rations containing 28,23% and 29,47% of castor oil seed meal and 10% of proteins.

The cakes show poisonless, and the efficience index of protein by the method of Osborne and Mendell was 2,1 and 1,9.

The palate was poor.

VII. BIBLIOGRAFIA

1) CLARKE, G. C. (1947). — Poisoning by castor seed. Brit. Vet. J. 103, 8:273.

2) COSTA, B.L. & LAUN, G. F. (1961). — Emprêgo da torta de mamona detoxicada na alimentação de pintos. Publicação n.º 38 do Instituto de Zootecnia. Ministério da Agricultura.

3) GEARY, T. (1950). — Castor bean poisoning. — Vet. Rec. 62, 32:472.

4) JACQUOT, R. e FERRANDO R. (1959). — Las tortas alimenticias. Trad. espanhola de André Suarez y Suarez. A.C.R.I.B.I.A. — Zaragosa.

5) JONES, D. B. (1947). — Proteins of the castor bean — Their preparation, properties and utilization. — J. Am. Oil Chem. Soc. 24:247.

6) JUILLET A.; SUSPLUGAS J. & COURP J. (1955).— Les oleagineux et leurs tourteaux. Enciclopedie Biologique. Paris.

7) KODRAS, R.; WHITEHAIR, C. K. & Mc VICOR, R. (1949). — Studies on the detoxication of castor seed pomace. J. Am. Ail Chem. Soc., 26:641.

8) MORRISON, F.B. (1957). — Feeds and feeding — Ithaca. N.Y.

9) NOVAES, D. (1952). — Valor nutritivo da farinha de babaçu. Tese. Rio de Janeiro.

10) OSBORNE, F. B.; MENDELL, L. B. & FERRY, E. L. (1919). — A method of expressing numerically the growth — promoting value of proteins. J. Biol Chem., 37: 223.

11) RAIMO, H. F. (1958). — Soja e farelo de mamona na alimentação dos animais. Rio Avícola — outubro.

12) ROMBAUTS, P. (1951). — Le tourteau de tornessol — Olegineaux, 4 e 5: 203 e 275. Paris.

13) WALLER, F. R. & NEGI, S. S. (1958). — Isolation of Ricin, Ricinine and the Allergenic fraction from Castor Seed Pomace from two different sources. J. Am. Oil Chem. Soc. 35, 8: 409.

14) WOOLDRIDGE, G. H. (1919). — J. Comp. Path. and Therap., *31,* 94 e WHITE, ibidem, 98.

Rato n.º 9 — Dermatose e queda de pêlos por carência protídica.