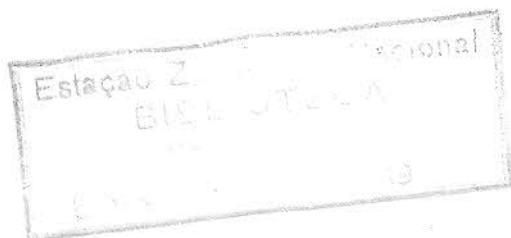


ANO XXXIV - N.º 2

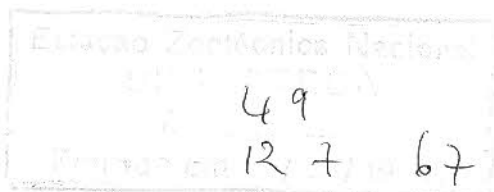


BOLETIM PECUÁRIO

1966

SUMÁRIO

- 1—A POSSIBILIDADE DE APARECIMENTO DE «CORPOS DE INCLUSÃO» INTRANUCLEARES NA PESTE SUÍNA CLÁSSICA
J. L. Nunes Pestisca
Zaida Santos
J. Costa Durão
- 2—OBSERVAÇÕES SOBRE A INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR «BACILLUS ANTHRACIS» E «PASTEURELLA MULTOCIDA» EM ASSOCIAÇÃO
J. Cristina Afonso
A. Nazareth Barbosa
- 3—ISOLAMENTO DE *BORDETELLA BRONCHISEPTICA* EM BRONCOPNEUMONIAS DE RATOS ALBINOS (*RATTUS NORVEGICUS*, BERKENHOUT, VAR. *ALBINOS*)
J. Fernandes Gomes
J. Lino de Sousa
M. Guerra Valente
- 4—OBSERVAÇÕES SOBRE A INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR «BACILLUS ANTHRACIS» E «ERISPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE» EM ASSOCIAÇÃO
A. Nazareth Barbosa
J. Cristina Afonso
- 5—IDENTIFICAÇÃO DOS TIPOS DE «CL. PERFRINGENS» QUE ATACAM OS OVINOS EM PORTUGAL
Arnaldo Mendonça Machado
Augusto Nazareth Barbosa
José Cristina Afonso
- 6—SOROTIPOS DE «SALMONELLA» IDENTIFICADOS EM PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL
J. Alves de Oliveira
J. P. Matos Águas
M. Dias Patinho
- 7—COMPARAÇÃO ENTRE UM MÉTODO RÁPIDO PARA DIAGNÓSTICO DA MAMITE («MASTEST») E A CONTAGEM CELULAR NO LEITE
Fernando Arnaldo Esteves
Mário Dias Patinho
Lia Freire e Silva
- 8—APRECIÇÃO DO PODER IMUNIZANTE DO SORO DO MAL RUBRO
José Cristina Afonso
- 9—PREPARAÇÃO DA VACINA DO CARBÚNCULO SINTOMÁTICO
José Cristina Afonso



ESTUDOS MORFOLÓGICOS SOBRE PESTE SUÍNA CLÁSSICA E AFRICANA (*)

I—A POSSIBILIDADE DE APARECIMENTO DE «CORPOS DE
INCLUSÃO» INTRANUCLEARES NA PESTE SUÍNA CLÁSSICA

Por

J. L. NUNES PETISCA
ZAIDA SANTOS
J. COSTA DURÃO

(*) Trabalhos executados na dependência do Plano Intercalar de Fomento.

O diagnóstico das doenças provocadas por vírus nos animais domésticos, tendo por base a presença de «corpos de inclusão», quer intranucleares, quer intracitoplásmicos, não é um problema novo; igualmente o não é o facto de na peste suína clássica poderem aparecer «corpos de inclusão» intranucleares; a frequência com que estes aparecem e o seu valor no diagnóstico diferencial da referida afecção é que tem dado origem a um grande número de controvérsias.

Na verdade alguns autores se têm dedicado, mais ou menos exaustivamente, ao estudo do problema e os resultados não são de maneira nenhuma animadores.

Assim HIMMELBERGER (4) faz referência a «inclusões citoplásmicas» em esfregaços do epitélio conjuntival, colhidos durante o período de elevação da temperatura, e usando como meio de evidenciação a clássica coloração pelo Giemsa.

Pelo contrário MORRIS (7) servindo-se não só de porcos, como também de diferentes animais de laboratório, inoculados com o vírus da peste suína clássica, e utilizando os mesmos métodos de HIMMELBERGER, nega a existência de «corpos de inclusão» na peste suína clássica. Da mesma maneira SEIFRIED (10) realizando observações microscópicas ao nível do sistema nervoso central de porcos normais e inoculados experimentalmente com o vírus da peste suína clássica, não viu «corpos de inclusão» típicos. Algumas imagens intranucleares que podiam suscitar confusões foram identificadas por aquele grande morfologista alemão, com imagens de degenerescência nuclear.

As pesquisas realizadas por MUIR (8) em diferentes animais de laboratório infectados experimentalmente, falharam no respeitante à demonstração de «corpos de inclusão» quer intranucleares, quer intracitoplásmicos.

BOYNTON (2) e colaboradores no exame de esfregaços da vesícula biliar de 600 porcos infectados com peste clássica e em 50 sofrendo de outras doenças, assinalaram a presença de «corpos de inclusão» intranucleares somente nos da peste suína clássica.

Com base nestes resultados PLUMMER (9) efectuou o controlo histológico das vesículas biliares de 38 porcos infectados com peste suína clássica e não pôde demonstrar em nenhum deles a presença de «corpos de inclusão» intranucleares.

DUNNE (3), em trabalho recente, afirma que as «inclusões intranucleares» na peste suína clássica podem aparecer, especialmente nos gânglios linfáticos, nunca antes do 6.º nem depois do 11.º dias de infecção, o que limita verdadeiramente o seu valor no diagnóstico da doença. Diz o mesmo autor que é por vezes muito difícil a diferenciação entre «corpos de inclusão» e outros aspectos degenerativos das células linfoides, donde se deduz que os mesmos «corpos de inclusão» são evidenciáveis ao nível dos linfócitos; no entanto, pelas imagens fotográficas que o mesmo autor mostra, na sua publicação, é difícil realmente chegarmos à conclusão de que se trata de verdadeiros «corpos de inclusão».

Igualmente «corpos de inclusão» considerados específicos da peste suína clássica, foram descritos no músculo cardíaco (MATHIAS) (6), nas células hepáticas (KREIG) (5) e nas células dos gânglios linfáticos (URMAN, UNDERDAHL, AIKEN, STAIR e YOUNG) (11).

BENSON (1) estudando igualmente o problema não encontrou «corpos de inclusão» em nenhum dos tecidos estudados histologicamente e, por esta razão, não lhe dá qualquer valor no diagnóstico da peste suína clássica. Nos esfregaços de vesícula biliar encontrou realmente alterações celulares que não se observam em porcos normais, mas que não são específicas da peste suína clássica.

Como se vê há grandes discordâncias, aspectos pouco claros e, fundamentalmente, uma frequência pouco elevada no aparecimento dos «corpos de inclusão» na peste suína clássica.

É, pois, evidente que não podemos contar com eles para um diagnóstico efectivo da peste suína clássica.

O presente trabalho não tem, pois, por objectivo resolver definitivamente um tão discutido problema, mas sim dar uma simples contribuição ao seu estudo.

É o facto que, no decurso dos nossos estudos sobre o diagnóstico diferencial morfológico entre a peste suína clássica e africana, nos apareceu um caso em que os «corpos de inclusão» intranucleares da primeira das afecções eram tão nítidos, clássicos e numerosos que não quisemos deixar fugir a oportunidade de os estudar um pouco mais detalhadamente.

Evidentemente que o estudo não está completo visto que a surpresa da observação microscópica nos impediu de realizar outras pesquisas citoquímicas que se imporiam e desejaríamos efectuar: o material já fixado e incluído em parafina não era de molde a tais pesquisas.

MATERIAL E MÉTODOS

Nos nossos estudos comparativos foram utilizados 13 animais, das criações privativas do L. N. I. V., de raça Large-White, com 4 meses de idade e cerc ade 40 kg de peso, sem quaisquer vacinações ou intervenções terapêuticas.

5 animais foram inoculados por via intramuscular com 2 c.c. de vírus-sangue, duma estirpe habitualmente utilizada no L. N. I. V. para provas de contraste de peste suína clássica; 6 animais foram inoculados por via intramuscular com 1 c.c. duma suspensão de baço em soro fisiológico, a cerca de 10 %, sendo o material proveniente de porcos seguramente mortos com peste suína africana; 2 animais serviram de testemunhas.

O material foi colhido imediatamente após a morte dos animais inoculados e o sacrifício dos animais testemunhas.

Todos os suínos inoculados com peste suína clássica morreram entre os 9 e os 13 dias após a inoculação, com quadro morfológico de peste suína clássica; o único onde foram vistos os «corpos de inclusão» morreu ao 13.º dia de inoculação.

Todos os suínos inoculados com peste suína africana morreram entre os 6 e os 8 dias após a inoculação, com quadro morfológico de peste suína africana.

Foram colhidos fragmentos de sistema nervoso central, gânglios linfáticos, coração, pulmão, fígado, baço, rim, supra-renal, bexiga, intestino, estômago e vesícula biliar.

Fixação imediata em Bouin-alcoólico e em Formol a 10 %, neutralizado.

Métodos de coloração:

Hematoxilina de Ehrlich-Eritrosina (HE)

Mac-Manus-Hotchkiss (MM)

Tricrômico verde de Masson (TV)

Tricrômico de Mallory (TM)

Teste de Brachet (TB) (concentração de ribonuclease 0,5 Miligrs. por c.c.. Tempo de digestão 1 h. e 30 minutos a 37°).

Feulgen (F)

Feulgen após a digestão com desoxiribonuclease (1 Miligr. de DNASE por c.c. dum soluto tampão de Veronal 0,025 M a pH 7,5 contendo 0,0025 M de sulfato de magnésio — tempo de digestão 20 horas a 37°).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na descrição dos resultados faremos, como é óbvio, referência exclusiva ao aspecto morfológico dos «corpos de inclusão».

Assim os «corpos de inclusão» intranucleares foram observados no fígado, no baço, nos gânglios linfáticos, na supra-renal, no pulmão e no rim.

A sua evidenciação foi sempre mais fácil e objectiva no material fixado com Bouin-alcoólico.

No fígado, localizavam-se exclusivamente ao nível do núcleo das células de Kupffer; no baço e gânglios linfáticos, nas células reticulares; na supra-renal, nas células de revestimento dos capilares sinusoides da zona cortical, especialmente na área reticular; no pulmão, nas células de revestimento alveolar e, no rim, nas células endoteliais do glomérulo ou nas células do folheto visceral da cápsula de Bowmann.

«Os corpos de inclusão» intranucleares assinalados são sempre únicos mas de volume variável e de forma arredondada ou elíptica; os mais

pequenos ocupam geralmente uma posição excêntrica enquanto que os maiores têm posição mais ou menos central; são rodeados por um círculo claro que resulta evidentemente da marginação das massas cromáticas, o que por vezes acarreta uma imagem hipercromática da membrana nuclear; o nucléolo desaparece quase sempre, mas há células em que ele é perfeitamente visível lado a lado com o «corpo de inclusão».

Com os métodos de coloração HE, TV e TM os «corpos de inclusão» mostram diferenças de intensidade de coloração que vão desde o francamente eosinófilo até ao intensamente basófilo; no entretanto, tanto a eosinofilia como a basofilia resultam duma mistura das duas tonalidades, nunca se mostrando no estado puro; somente nos mais intensamente basófilos se dá quase que o desaparecimento total do fundo eosinófilo.

Com o método de MM há igualmente uma predominância da basofilia sobre um fundo muito fracamente PAS positivo.

O TB revela positividade à pironina e sobre esse leve fundo vermelho notam-se grãos, mais ou menos abundantes, positivos ao verde de metilo; após a digestão com a ribonuclease nota-se somente em poucos «corpos de inclusão» uma diminuição pouco acentuada de intensidade de coloração com a pironina; na maioria dos «corpos de inclusão» o RNA resiste à digestão respectiva.

Com o método de Feulgen as granulações positivas ao verde de metilo são também nitidamente coradas, mas após a digestão com a desoxirribonuclease, verifica-se que só em poucas «inclusões» esses grãos resistem à acção diastásica.

Conforme se depreende dos relatos efectuados até aqui os «corpos de inclusão» intranucleares foram observados num só animal de entre cinco inoculados com peste suína clássica. Nos seis animais inoculados com peste suína africana e nos dois testemunhas não foram vistas quaisquer imagens que pudessem levar a uma tal conclusão.

O animal que apresentava os referidos «corpos de inclusão» morreu ao fim do 13.º dia de inoculação o que, em princípio, está em desacordo com as afirmações de DUNNE que somente as assinala entre o 6.º e o 11.º dias.

Igualmente, e como se disse, o mesmo autor (DUNNE) dá a entender que esses «corpos de inclusão» intranucleares se observam ao nível do

núcleo das células linfoides; ora, no nosso caso, isso nunca se verificou, sendo sempre as células do sistema histiocitário ou outras com ele aparentadas, as que os apresentam.

As imagens morfológicas resultantes dos métodos citoquímicos que tivemos possibilidade de empregar fazem supor que os «corpos de inclusão» intranucleares da peste suína clássica estejam compreendidos num autêntico ciclo evolutivo, conforme o atestam as variações das suas afinidades tinturiais.

O TB e o F com as respectivas digestões enzimáticas fazem acreditar que na composição dos «corpos de inclusão» em estudo estão fundamentalmente representadas as nucleoproteínas, nomeadamente o RNA e o DNA, sempre com predominância do primeiro. A sua resistência diferente aos testes enzimáticos mais reforça a ideia da existência dum ciclo evolutivo da inclusão.

CONCLUSÕES

- 1 — Os «corpos de inclusão» intranucleares podem aparecer na peste suína clássica num número muito restrito de casos o que diminui, evidentemente, o seu valor no diagnóstico da doença.
- 2 — O seu aparecimento pode dar-se pelo menos até ao 13.^o dia de inoculação.
- 3 — A sua localização preferencial é ao nível das células histiocitárias do fígado, baço e gânglios linfáticos, bem como nas paredes dos capilares da supra-renal e glomérulo de Malpighi e, ainda, nas células do revestimento alveolar do pulmão.
- 4 — Nunca observámos estes «corpos de inclusão» na peste suína africana e nos animais testemunhas.
- 5 — Segundo as provas citoquímicas que pudemos realizar, parecem ser o RNA e o DNA que constituem fundamentalmente o «corpo de inclusão», sempre com predominância do primeiro.
- 6 — Em relação com a variabilidade do seu aspecto morfológico parece que a sua formação está sujeita a um autêntico ciclo evolutivo.

Maio de 1966

RESUMO

Os autores assinalam a presença de corpos de inclusão intranucleares no fígado, baço, gânglios linfáticos, supra-renal, pulmão e rim dum suíno infectado experimentalmente com peste suína clássica.

RESUMÉ

Les A.A. signalent la présence des corps d'inclusion intranucléaires dans le foie, rate, ganglions lymphatiques, surrénale, poumon et rein chez un porc infecté expérimentalment avec peste porcine classique.

SUMMARY

The A.A. point out the presence of intranuclear inclusions bodies in the liver, spleen, lymphatic ganglions, supra-renal, lungs and kidney on a pig experimentally infected with Hog Cholera.

RIASSUNTO

Gli A.A. riferiscono la presenza dei corpi da inclusione intranucleari nel fegato, milza, linfonodi, surrenale, polmone e rene di un maiale inoculato sperimentalmente con peste porcina classica.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Verfasser stellen Kerneinschlüsse in der Leber, in der Milz, in den Lymphknoten, in den Nebennieren, in den Lungen und in den Nieren eines Schweines fest, das experimentell mit klassischer Schweinepest infiziert wurde.

BIBLIOGRAFIA

- 1—BENSON (D. V.)—1952—*The value of Inclusion Bodies in the Diagnosis of Hog Cholera.* Am. J. Vet. Res., 13, 304.
- 2—BOYNTON (W. H.), WOODS (G. M.) e CASSELBERRY (N. H.)—1941—*Cell changes in the gall bladder as an aid in the diagnosis of Hog Cholera.* Proc. 45th. Ann. Meet V. S. Livestock San. Assn., 44.
- 3—DUNE (H. W.)—1963—*Field and Laboratory Diagnosis of Hog Cholera.* Vet. Med. 58, 222.
- 4—HIMMELBERGER (L. R.)—1956—*Cell Inclusions in Hog Cholera.* J. Am. Vet. Med. Ass. 48, 450.
- 5—KREIG (K.)—1961—Cit. por DUNNE (3).
- 6—MATHIAS (D.)—1960—Cit. por DUNNE (3).
- 7—MORRIS (M. C.)—1935—Cit. por BENSON (1).
- 8—MUIR (R. O.)—1943—*A search for Diagnostic Symptoms in a variety of small experimental animals after administration of swine fever tissue suspensions by different routes.* J. Comp. Path. and Therap., 53, 237.
- 9—PLUMMER (P. J. G.)—1943—Cit. por BENSON (1).
- 10—SEIFRIED (O.)—1932—Cit. por BENSON (1).
- 11—URMAN (H. K.), UNDERDAHL (M. S.), AIKEN (I. M.), STAIR (E. L.) e YOUNG (C. A.)—1962—*Intranuclear inclusions bodies associated with hog cholera.* J. Am. Vet. Med. Ass., 141, 571.

INCLUSÕES DE PESTE SUÍNA CLÁSSICA

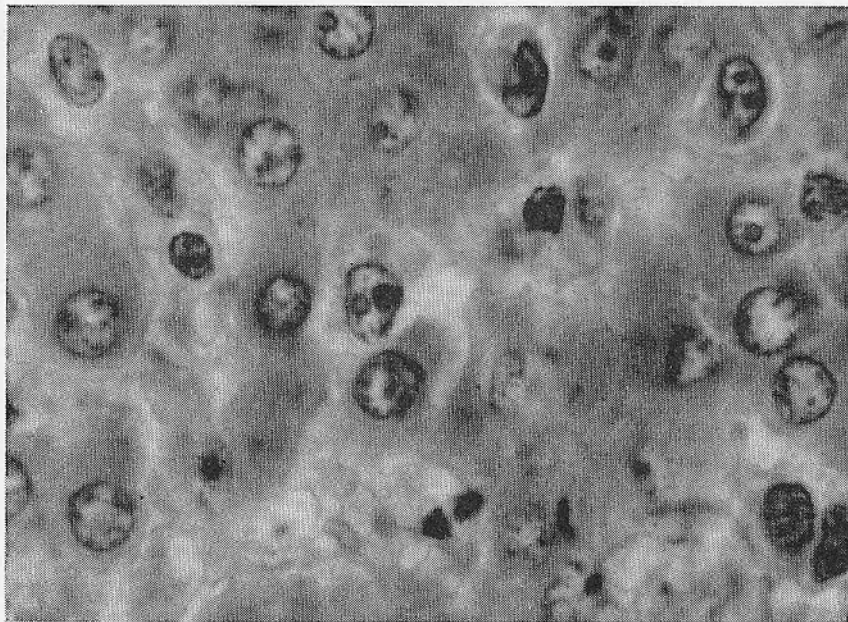


Fig. 1 — Fígado. Corpo de inclusão intranuclear numa célula histiocitária. Leitz-Leica
Oc. 10 Obj. Imersão H. E.

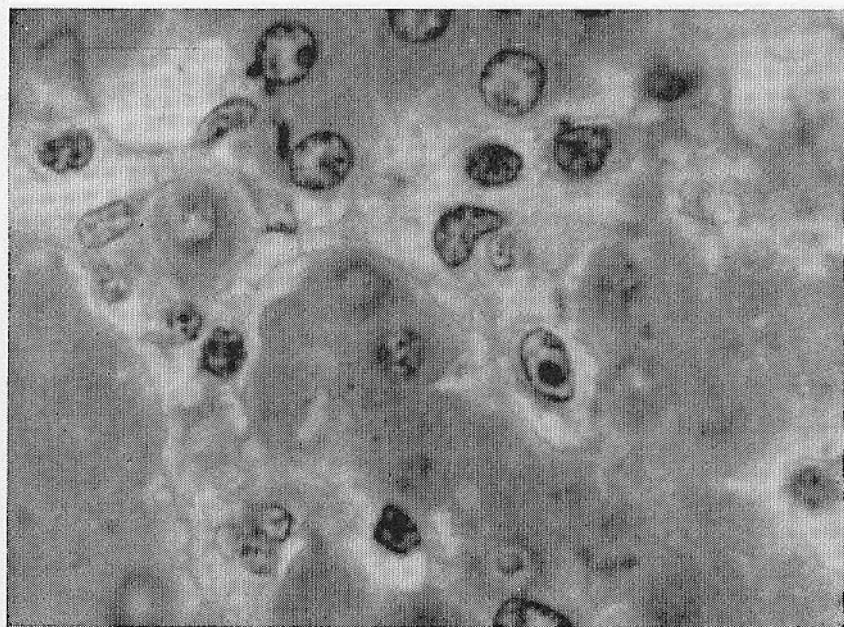


Fig. 2 — Fígado. Corpo de inclusão intranuclear numa célula histiocitária. Leitz-Leica
Oc. 10 Obj. Imersão H. E.

INCLUSÕES DE PESTE SUÍNA CLÁSSICA

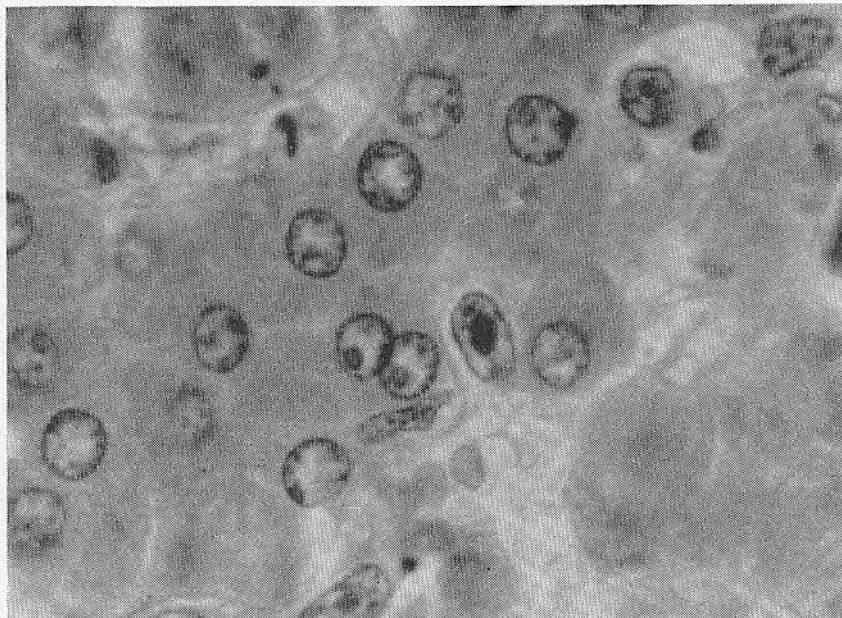


Fig. 3—Fígado. Corpo de inclusão intranuclear numa célula histiocitária. Leitz-Leica Oc. 10 Obj. Imersão H. E.

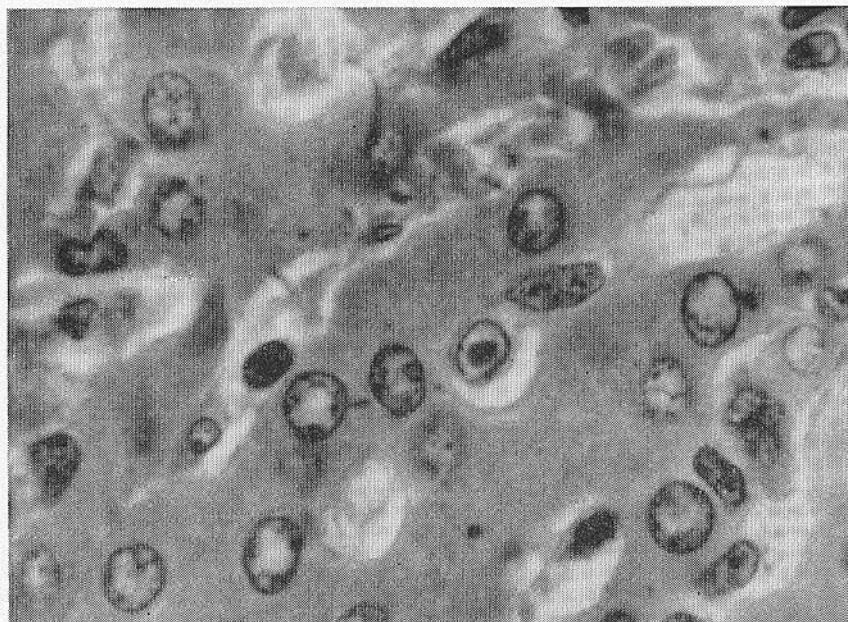


Fig. 4—Fígado. Corpo de inclusão intranuclear numa célula histiocitária. Leitz-Leica Oc. 10 Obj. Imersão H. E.

INCLUSÕES DE PESTE SUÍNA CLÁSSICA

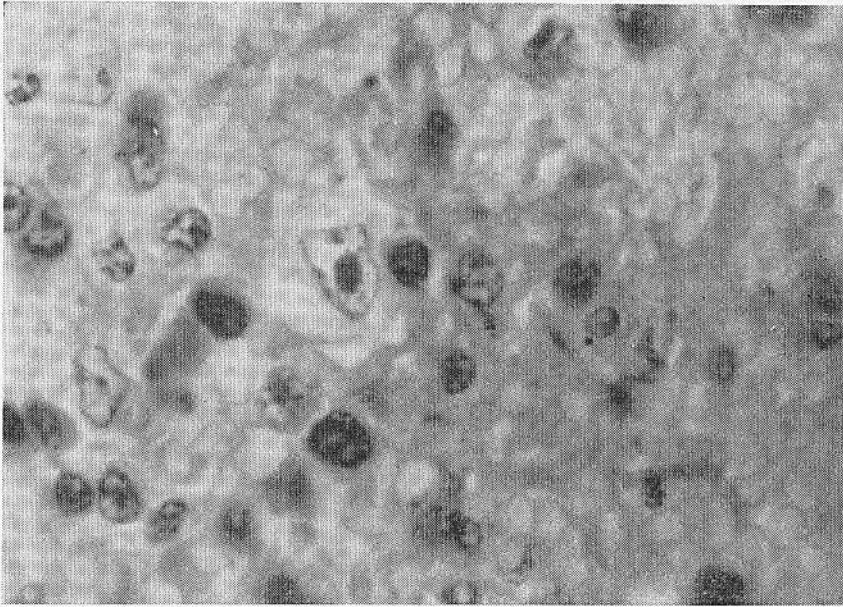


Fig. 5—Baço. Corpo de inclusão intranuclear numa célula histiocitária. Leitz-Leica
Oc. 10 Obj. Imersão H. E.

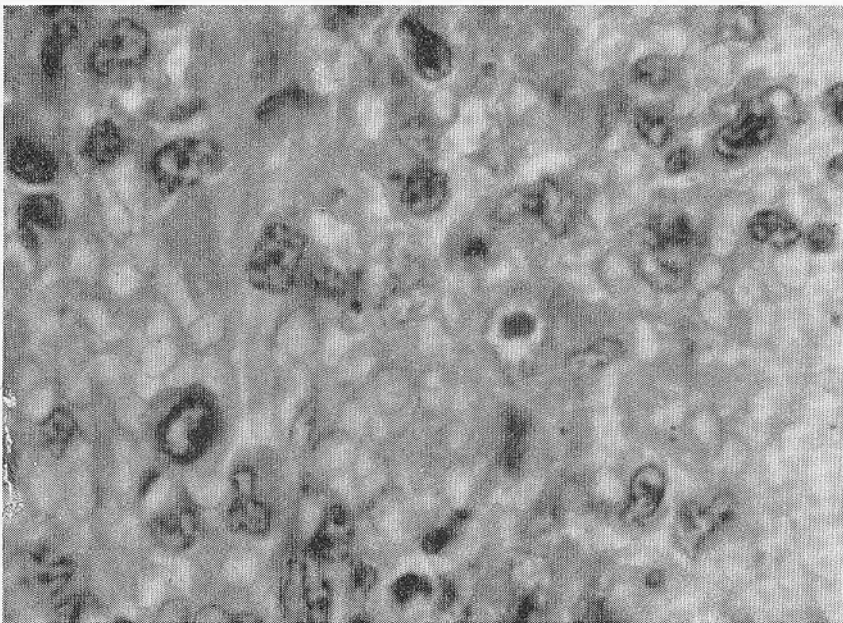


Fig. 6—Baço. Corpo de inclusão intranuclear numa célula histiocitária. Leitz-Leica
Oc. 10 Obj. Imersão H. E.

INCLUSÕES DE PESTE SUÍNA CLÁSSICA

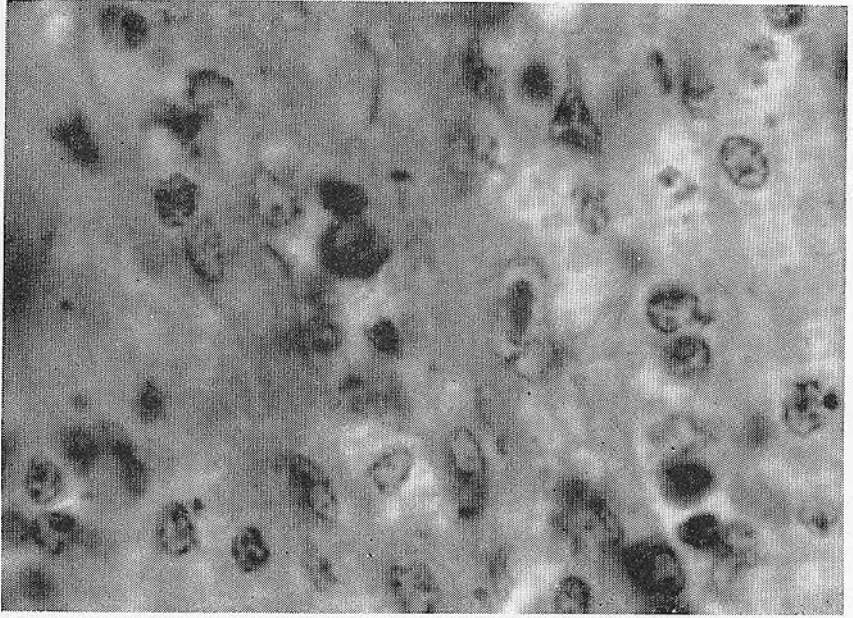


Fig. 7 — *Gânglio Linfático gastro-hepático. Corpo de inclusão intranuclear numa célula reticular. Leitz-Leica Oc. 10 Obj. Imersão H. E.*

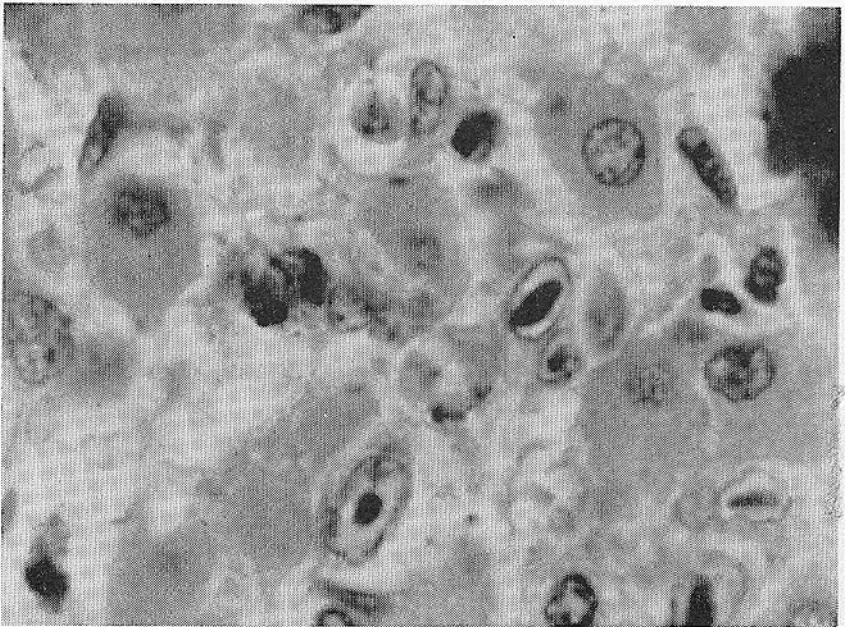


Fig. 8 — *Supra-renal. Corpos de inclusão intranucleares nas células dos capilares. Leitz-Leica Oc. 10 Obj. Imersão H. E.*

INCLUSÕES DE PESTE SUÍNA CLÁSSICA

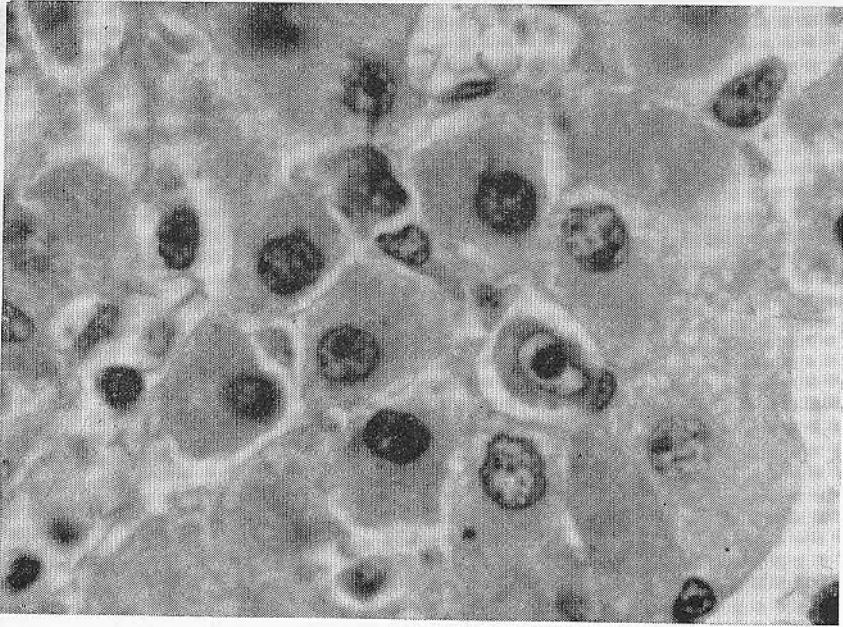


Fig. 9 — *Supra-renal*. Corpo de inclusão intranuclear numa célula dum capilar.
Leitz-Leica Oc. 10 Obj. Imersão H. E.

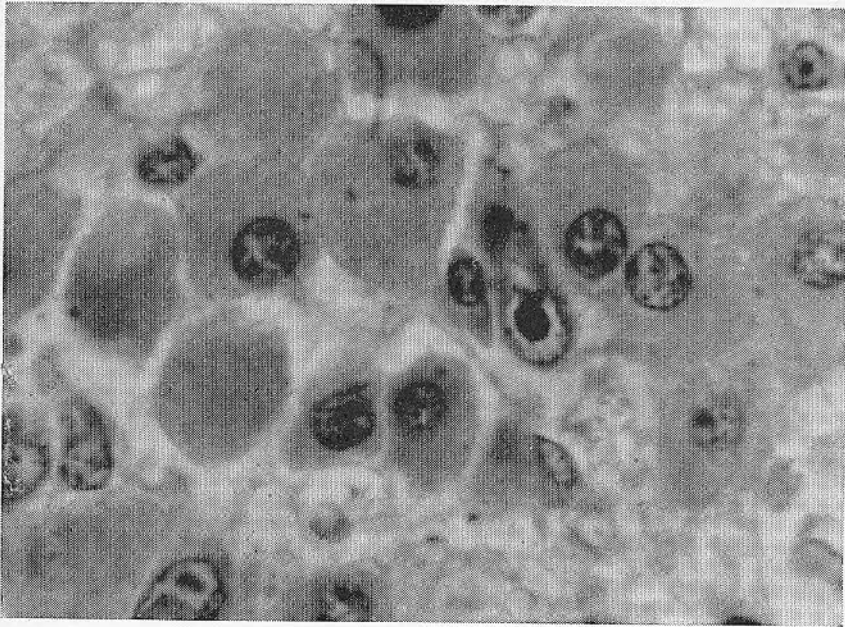


Fig. 10 — *Supra-renal*. Corpo de inclusão intranuclear numa célula dum capilar.
Leitz-Leica Oc. 10 Obj. Imersão H. E.

INCLUSÕES DE PESTE SUÍNA CLÁSSICA

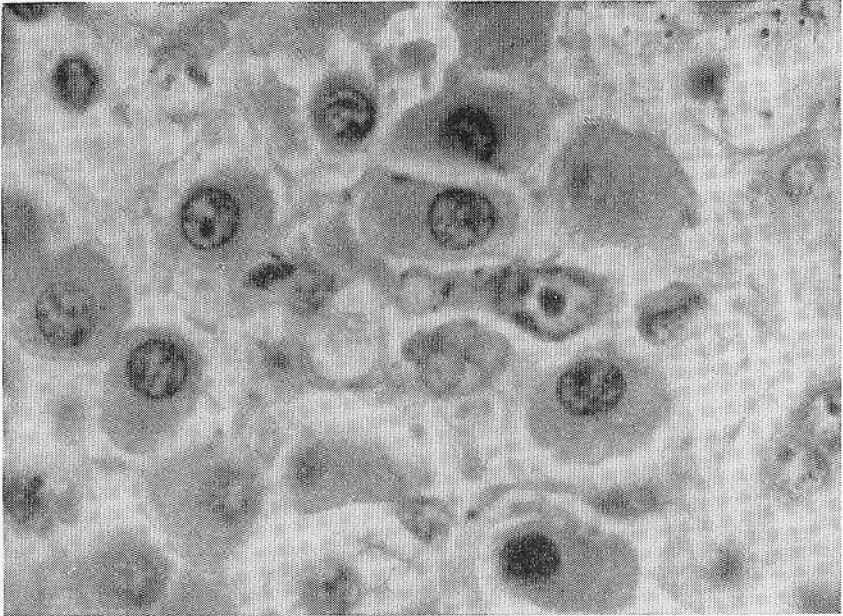


Fig. 11 — *Supra-renal. Corpo de inclusão intranuclear numa célula dum capilar. Leitz-Leica Oc. 10 Obj. Imersão H. E.*

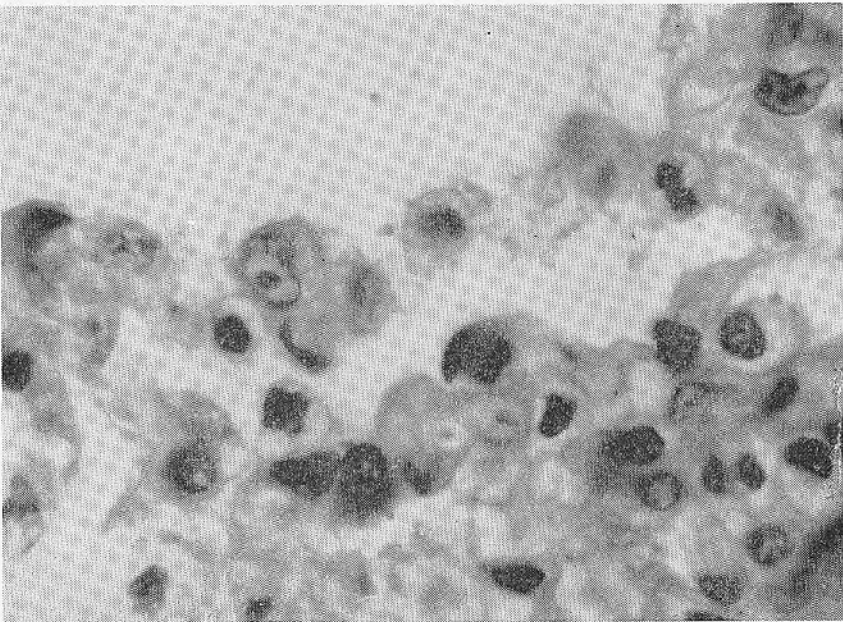


Fig. 12 — *Pulmão. Corpo de inclusão intranuclear numa célula de revestimento alveolar. Leitz-Leica Oc. 10 Obj. Imersão H. E.*

INCLUSÕES DE PESTE SUÍNA CLÁSSICA

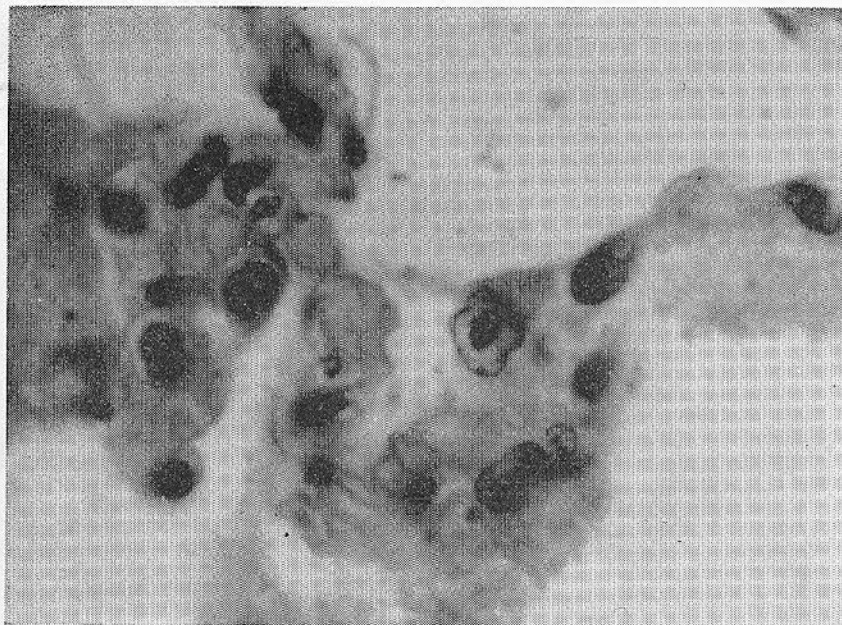


Fig. 13—Pulmão. Corpo de inclusão intranuclear numa célula de revestimento alveolar. Leitz-Leica Oc. 10 Obj. Imersão H. E.

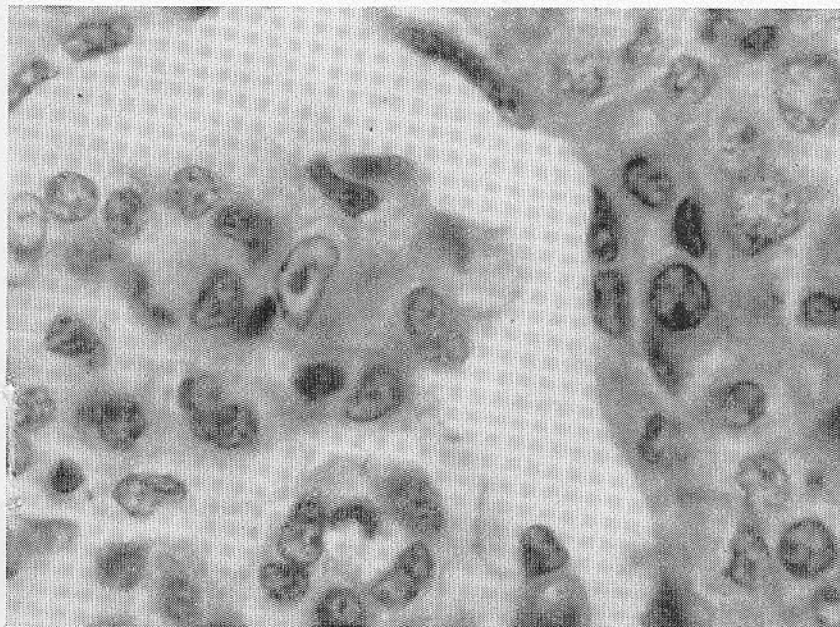


Fig. 14—Rim. Corpo de inclusão intranuclear numa célula endotelial. Leitz-Leica Oc. 10 Obj. Imersão H. E.