



Alterações clínicas em cobaias (*Cavia porcellus*) inoculados experimentalmente com isolados de campo de *Burkholderia mallei* de equídeos com mormo

[Clinical alterations in guinea pigs (*Cavia porcellus*) experimentally inoculated with field samples of *Burkholderia mallei* from glanders positive equine]

"Artigo Científico / Scientific Article"

RA Mota^{A(*)}, LB Galiza Silva^A, AP Cunha^B, ESN Sobrinho^A, JW Pinheiro Junior^A,
SSA Rabelo^C, AAF Oliveira^D

^ALaboratório de Bacterioses do Departamento de Medicina Veterinária (DMV) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Rua Manoel de Medeiros, s/nº - Dois Irmãos, CEP: 52171-900 – Recife-PE/Brasil.

^BMédico Veterinário Autônomo.

^CSetor de Clínica de Grandes Animais do DMV da UFRPE.

^DLaboratório de Patologia do DMV da UFRPE.

Resumo

Objetivou-se estudar os aspectos clínicos, hematológicos e bioquímicos em cobaias experimentalmente infectados com *Burkholderia mallei*. Foram utilizados 60 cobaias (*Cavia porcellus*) machos distribuídos equitativamente em seis grupos de 10 animais. Cinco grupos foram inoculados com diferentes amostras de campo de *B. mallei*, isoladas de secreção purulenta de nódulos cutâneos de equídeos com mormo e um grupo controle inoculado com solução salina estéril. O estudo clínico foi realizado diariamente, anotando-se dados clínicos, como temperatura corporal, estado geral, perda de peso, aumento de volume e consistência testicular. Para o estudo hematológico e bioquímico foram utilizados dois animais de cada grupo a cada 48 horas, totalizando 10 animais por tempo de observação. Observou-se prova de Strauss positiva às 48 horas após a inoculação e aumento de temperatura corporal, sinais de septicemia e lesões de intensidade diferente em órgãos nos animais de todos os grupos, indicando possível variação na virulência das amostras de campo inoculadas e na resposta de cada animal à infecção. Conclui-se que os cobaias constituem-se em um excelente modelo para a reprodução experimental do mormo e que podem ser utilizadas em pesquisas envolvendo a bactéria e também no diagnóstico da doença.

Palavras-chave: epizootia, prova de Strauss, infecção respiratória.

Abstract

The aim was to study the clinical, haematological and biochemical aspects of guinea pigs experimentally infected with *Burkholderia mallei*. Sixty male guinea pigs (*Cavia porcellus*) were equitably distributed in six groups of 10 animals. Five groups were inoculated with different field samples of *B. mallei* isolated from purulent discharge of skin nodules of equines with glanders and a control group inoculated with saline sterile solution. The clinical study was daily made writing down data such as body temperature, the general clinical aspect of the animal, weight loss, the increase of volume and consistency of testicles. To the haematological and biochemical studies two animals of each group were used each 48 hours, in a total of ten animals per observation time. The Strauss reaction was positive 48 hours after the inoculation and the increasing of body temperature, septicemia signs and lesions of different intensity in organs of the animals in all groups, indicating possible variation in the virulence of the inoculated field samples and in the response of each animal to the infection. It is concluded that the guinea pigs consist of an effective model to experimentally reproduce glanders and can be used in research involving the bacteria as well as in the diagnosis of the disease.

Key-words: epizooty, Strauss reaction, respiratory infection.

(*) Autor para correspondência/Corresponding author (canjani_ch@hotmail.com)

(§) Recebido em 01/08/07 e aceito em 08/01/08.

Introdução

O mormo, importante doença dos eqüídeos, considerada erradicada do Brasil há décadas, provavelmente, passou despercebido durante um longo período pela similaridade de sintomas manifestados por outras afecções respiratórias dos eqüídeos ou pela coleta e processamento inadequado das amostras enviadas para exames laboratoriais. Esta observação é fundamentada pela dificuldade de isolamento da *Burkholderia mallei* (*B. mallei*) de lesões nasais de eqüídeos com mormo e no fato das tentativas anteriores do diagnóstico etiológico da doença ter exclusivamente pautado no estudo microbiológico das lesões nasais dos animais doentes. Isto possibilitou que a doença permanecesse dentro das propriedades e a bactéria fosse disseminada entre os animais ou outros criatórios de eqüídeos, contribuindo com a situação epidemiológica atual da doença na Região Nordeste do país (MOTA et al., 2004).

De acordo com os dados revisados no Brasil por Langenegger et al. (1960), o mormo foi descrito pela primeira vez em 1811, introduzido provavelmente por animais infectados que foram importados da Europa (PIMENTEL, 1938), desencadeando-se verdadeiras epizootias em várias localidades no território nacional, vitimando muares, cavalos e humanos acometidos com sintomatologia de catarro e cancro nasal. Posteriormente, Mota et al. (2000) relataram a reemergência da doença em eqüídeos nos Estados de Pernambuco e Alagoas, determinando sérios prejuízos econômicos aos criadores e comprometendo a atividade canavieira que se utiliza desses animais como forma de tração.

Langenegger et al. (1960) descreveram que o material colhido de nódulos pulmonares e da mucosa nasal, inoculado em cobaias machos, por via subcutânea, na linha Alba à aproximadamente 2 cm do saco escrotal, resultou na reação positiva da prova de Strauss. Esta prova foi positiva em 11 dos 12 cobaias inoculados e evoluiu, apresentando entre o 2º e o 4º dia, hipertrofia do saco escrotal com edema e

hiperemia da pele testicular. A partir do 4º dia observaram a formação de pústulas que evoluíram para abscesso e ulceraram em torno do 8º dia. Posteriormente, apareceram abscessos articulares e, por fim, os cobaias morreram após a 3ª semana de inoculação.

Após a inoculação experimental de *B. mallei* em cobaias, Mota et al. (2000) relataram presença de febre, apatia, anorexia, hipertrofia testicular e dos linfonodos regionais.

O cobaia, quando inoculado com cultura de *B. mallei* morre por septicemia após um prazo variável que depende da virulência da cultura e da dose inoculada. À necropsia, observa-se abscesso, por vezes ulcerado, no ponto de inoculação, tumefação e supuração dos linfonodos satélites e, mesmo, adenopatia generalizada, lesões nodulares no pulmão, baço, fígado, entre outros. Por via intraperitoneal, desenvolve-se entre 2 e 4 dias, orquite com exsudato caseoso ou purulento entre os dois folhetos da túnica vaginal (BIER, 1984).

Nos cobaias, Mota et al. (2000) verificaram que os achados de necropsia mais freqüentes foram testículos hiperêmicos, hipertrofiados e aderidos ao saco escrotal, com formação de abscessos e fístulas que drenavam exsudato levemente amarelado. O parênquima testicular encontrava-se totalmente destruído e o saco escrotal preenchido por conteúdo purulento. O fígado apresentava-se com bordos arredondados, focos de necrose e múltiplos abscessos. Havia pneumonia abscedante multifocal, esplenomegalia e abscessos esplênicos. Também observaram a formação de múltiplos abscessos em linfonodos, rins, estômago e no tecido subcutâneo (no ponto de inoculação).

Objetivou-se com este trabalho avaliar os aspectos clínicos, hematológicos e bioquímicos de cobaias experimentalmente infectados com isolados de campo da *B. mallei* em eqüídeos naturalmente infectados, procedentes dos Estados de Pernambuco e Alagoas para contribuir com pesquisas envolvendo a infecção experimental, assim como para o diagnóstico desta doença.

Material e Métodos

Foram utilizados cinco eqüídeos procedentes de diferentes Municípios do Estado de Pernambuco, sendo dois do Recife, um de Paulista, um de Gravatá e um de Ipojuca. Os animais encontravam-se naturalmente infectados e sorologicamente positivos para o mormo ao teste de fixação do complemento e clinicamente doentes, em diferentes estágios da doença. As amostras biológicas foram coletadas por meio de *swabs* esterilizados da secreção nasal purulenta (três animais), assim como dos nódulos cutâneos fechados (cinco animais) por meio de punção aspirativa com agulha hipodérmica 40x12mm, após anti-sepsia da região com álcool iodado.

Os “swabs” nasais e a secreção purulenta foram semeados em Ágar base enriquecido com 5% de sangue ovino desfibrinado e incubados a temperatura de 37 °C em aerobiose, procedendo-se leitura após um período de 24 a 48 horas. Após o isolamento procedeu-se a identificação da *B. mallei*, utilizando-se provas bioquímicas como catalase, oxidase, indol, produção de H₂S, vermelho de metila, Voges Proskauer, motilidade, crescimento a 42 °C, produção de pigmento, lisina descarboxilase, gás de d-glucose, citrato, urease e fermentação de carboidratos (glicose, maltose, galactose, lactose, frutose, manose, sacarose e manitol), segundo Al-Ani et al. (1987). Cada isolado foi semeado em tubo de ensaio contendo 2 mL de Caldo Brain Heart Infusion (BHI) e incubado por um período de 24 horas a 37 °C sob agitação constante, ou até a turvação do caldo, com o objetivo de obter o inóculo para infectar os cobaias.

Para o estudo da infecção experimental foram utilizados cobaias (*Cavia porcellus*) machos, adultos e aparentemente sadios que foram inoculados por via intraperitoneal, com volume de 0,25 mL do inóculo constituído por suspensão de *B. mallei*. Para este estudo foram utilizadas as bactérias isoladas dos animais de número 1, 2, 3, 4 e 5, constituindo-se cinco grupos (G1, G2, G3, G4 e G5) com 10 animais cada,

totalizando 50 animais e um grupo controle (G6), também composto por 10 animais.

Os animais foram avaliados a cada 24 horas para estudo clínico (estado geral, temperatura, peso e aumento do volume testicular). Para o estudo hematológico e bioquímico, realizou-se hemogramas no dia zero e a cada 48 horas após a inoculação, utilizando-se dois animais por grupo, totalizando dez animais por tempo de observação. Utilizou-se para esse fim, a metodologia descrita por Jain (1993), assim como para a dosagem das proteínas séricas e fibrinogênio. Para a dosagem da uréia e creatinina empregou-se técnica descrita por Kaneko (1989).

Para a análise dos dados foram utilizadas técnicas de estatística descritiva através da distribuição absoluta, percentuais e medidas estatísticas (mínimo, máximo, média, desvio padrão e coeficiente de variação) e técnicas de estatística inferencial através dos testes estatísticos e do teste de Kruskal-Wallis. O nível de significância utilizado nas decisões foi de 5%, de acordo com Sampaio (1998).

Resultados e Discussão

Obeve-se da secreção nasal de três animais o isolamento de bactérias dos gêneros *Staphylococcus* sp (80%), *Bacillus* sp (20%), *Escherichia coli* (20%), *Klebsiella* sp (20%), *Streptococcus* sp (20%), *Pseudomonas* sp (20%) e *B. mallei* (40%).

Em contrapartida, dos cinco animais que apresentavam nódulos cutâneos fechados, isolou-se a *B. mallei* em cultura pura de quatro animais e associada ao *Staphylococcus* sp em um animal.

Segundo comunicação de criadores e veterinários dos Estados de Pernambuco e Alagoas, há mais de 10 anos é observado nos eqüídeos, o que chamam de catarro de burro. Os animais desenvolvem secreção nasal purulenta, às vezes com presença de sangue, enfraquecem e morrem. O tratamento era realizado à base de antibióticos e, apesar da melhora aparente observada em alguns animais, após retorno ao trabalho, havia

recidiva e óbito, atingindo letalidade próxima a 100%. A coleta de material para diagnóstico, geralmente secreção nasal purulenta, não resultava em um diagnóstico conclusivo, permanecendo o catarro de burro como doença respiratória sem diagnóstico etiológico.

Na Tabela 1 encontram-se os resultados das principais alterações clínicas

observadas nos cobaias dos grupos experimentalmente inoculados.

Deve-se considerar nesta tabela que a diferença das alterações clínicas observadas são variadas pelo fato de que a cada 48 horas dois animais que estavam em pior estado eram eutanasiados, porém se todos fossem observados no décimo dia, os resultados poderiam ser mais homogêneos.

Tabela 1 - Frequências absoluta e relativa das alterações clínicas observadas nos cobaias inoculados com amostras de campo de *B. mallei* no Estado de Pernambuco, 2006.

Tipo de alteração clínica	Amostra de <i>B. mallei</i>											
	G1		G2		G3		G4		G5		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Apatia	5	71,4	6	60	7	70	4	40	4	44,4	26	56,5
Pelos eriçados	-	-	-	-	8	80	4	40	-	-	12	26,1
Conjuntivite	2	28,5	1	10	1	10	2	20	-	-	6	13,0
Decúbito lateral	-	-	1	10	-	-	-	-	-	-	1	2,2
Dispneia	-	-	-	-	-	-	1	10	-	-	1	2,2
Ventre cianótico	1	14,8	-	-	1	10	2	20	-	-	4	8,7
Ponto de inoculação de consistência firme	-	-	-	-	-	-	3	30	-	-	3	6,5
Abscesso no ponto de inoculação	-	-	-	-	1	10	1	10	1	11,1	3	6,5
Testículo de consistência firme	3	42,8	9	90	9	90	8	80	5	55,5	34	73,9
Testículo edemaciado	7	100	10	100	9	90	10	100	8	88,8	44	95,7
Testículo hiperêmico	6	85,7	8	80	8	80	8	80	7	77,7	37	80,4
Testículo cianótico	-	-	3	30	1	10	1	10	-	-	5	10,9
Abscesso testicular	-	-	-	-	2	20	-	-	-	-	2	4,3
Necrose testicular	-	-	-	-	1	10	-	-	-	-	1	2,2
Ulceração testicular	-	-	1	10	-	-	-	-	-	-	1	2,2
Óbito	1	-	3	30	-	-	-	-	-	-	4	8,7
Base	7	-	10	-	10	-	10	-	9	-	46	-

Nos G1 e G2, as cobaias não apresentaram alterações clínicas 24 horas após a inoculação, mas às 48 horas observou-se edema, aumento de tamanho e hiperemia dos testículos. Entre 72 e 120 horas mostraram-se apáticas, os testículos apresentaram-se firmes e com aumento acentuado de volume. No G1, um animal apresentou corrimento ocular seroso e 144 horas após a inoculação, um animal morreu, dois não desenvolveram a enfermidade e um apresentou abscesso no

ponto de inoculação e aumento dos testículos 15 dias após a inoculação. No G2, às 196 horas um animal apresentou ulceração no testículo direito com fístula e drenagem de conteúdo purulento e três animais morreram entre 96 e 144 horas.

Nos G3, G4 e G5 observou-se edema e hiperemia dos testículos entre 24 e 48 horas após a inoculação. No G3, entre 48 e 72 horas, três animais apresentaram apatia e dois, pelos arrepiados, sendo que os outros sete animais

apresentaram-se apáticos por volta das 96 horas. Entre 120 e 144 horas, quatro animais apresentaram pelos arrepiados e um deles apresentou conjuntivite e outro evidenciava uma área de necrose com aproximadamente 2 cm de diâmetro e com um abscesso no testículo direito de 0,5 cm. Considerando os dois últimos animais do grupo, entre 216 e 240 horas, um deles apresentou apatia, testículo edemaciado, cianótico e de consistência firme, e o outro, apenas com o testículo esquerdo aumentado, mas de consistência normal e com abscesso no ponto de inoculação.

No G4, entre 72 e 96 horas, dois animais apresentaram conjuntivite purulenta, apatia e pelos arrepiados e um terceiro apresentou abscesso no ponto de inoculação, não tendo desenvolvido edema testicular. Às 120 horas, outros dois animais apresentaram conjuntivite e outro apatia e pelos eriçados. Os quatro animais restantes mantiveram o quadro de orquite, sendo dois unilateral.

No G5, às 48 horas, oito animais apresentaram os testículos hiperêmicos e edemaciados. Às 72 horas, dois não apresentaram sintomatologia clínica e o quadro dos seis animais restantes mantiveram edema mais intenso dos testículos com consistência mais firme. Após 96 horas, um animal apresentou pêlos eriçados e corrimento nasal seroso. Entre 120 e 144 horas, um animal que não apresentava sintomatologia clínica desenvolveu abscesso no ponto de inoculação e às 240 horas, outro animal não manifestou sintomas da doença até 240 horas pós-inoculação.

Observa-se na Tabela 1 que o principal órgão afetado foi o testículo (Figura 1), indicando prova de Strauss positiva.

Esta prova se traduz por edema, hiperemia e aumento da consistência do mesmo nas primeiras 48 horas, podendo-se observar também cianose, abscesso, necrose e ulceração do testículo, de acordo com o agravamento da doença. É importante salientar que não somente da cultura pura pode-se fazer a inoculação nos cobaias, mas também, para um primeiro isolamento, pode-

se inocular a secreção nasal ou mesmo a secreção purulenta aspirada dos abscessos dos equídeos com a forma cutânea da doença. Desta forma, obtém-se, na grande maioria dos casos, a confirmação da doença, o que nem sempre é possível através do isolamento direto do material em meios de cultura, principalmente do material coletado da cavidade nasal.

Observou-se também apatia, pelos eriçados e conjuntivite em alguns animais de todos os grupos inoculados, acompanhados sempre das lesões testiculares que foram as mais importantes. Estes resultados são compatíveis com os encontrados por Mota et al. (2000), onde os cobaias apresentaram febre, apatia, anorexia, aumento de volume testicular e de linfonodos regionais. Um dos cobaias morreu no 8º dia após a inoculação, outros dois foram sacrificados no final da segunda semana após a inoculação.



Figura 1 - Infecção experimental pela *Burkholderia mallei*. Prova de Strauss positiva. Cobiaia apresentando aumento de volume testicular e severa congestão 10 dias pós-inoculação.

Os cobaias de todos os grupos apresentaram perda considerável de peso, em média, de 20 g por dia, indicando que os mesmos desenvolvem perda parcial de apetite, como mostra a Figura 2. Observou-se, também hipertermia, onde, os mesmos apresentavam uma temperatura média de 37 °C no dia da inoculação e esta evoluiu até 40 °C em alguns cobaias inoculados.

Na Tabela 2 são apresentados os resultados do hemograma e bioquímica sérica para a amostra total por tempos de avaliação. Não houve variação significativa para as

variáveis entre os grupos nas diferentes horas pós-inoculação, por isso, os resultados foram agrupados em apenas um grupo, denominado experimental.

Tabela 2 – Estatística descritiva das variáveis do hemograma e bioquímica sérica do total das cobaias inoculadas com *B. mallei* nas diferentes horas pós-inoculação, Estado de Pernambuco, 2006.

Variáveis	Horas pós-inoculação									
	48		96		144		192		240	
	Média	D.P.	Média	D.P.	Média	D.P.	Média	D.P.	Média	D.P.
<i>Eritrograma</i>										
Hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	5,47 ^(a)	0,90	5,19 ^(a)	1,16	5,28 ^(a)	0,80	5,00 ^(a)	0,87	5,29 ^(a)	0,60
Hematócrito (%)	43,50 ^(a)	4,22	42,10 ^(a)	4,89	42,70 ^(a)	9,91	35,43 ^(b)	4,65	39,17 ^(a)	1,60
Hemoglobina (g/dL)	12,39 ^(a)	2,63	11,86 ^(a)	2,18	12,88 ^(a)	2,44	12,04 ^(a)	2,52	11,51 ^(a)	0,78
VCM (fl)	80,90 ^(a)	11,30	83,92 ^(a)	14,91	81,56 ^(a)	14,58	74,43 ^(a)	14,27	75,18 ^(a)	6,44
HCM (pg)	24,11 ^(a)	4,00	23,43 ^(a)	3,62	24,43 ^(a)	2,61	25,71 ^(a)	4,79	22,13 ^(a)	3,31
CHGM (%)	30,01 ^(b)	4,62	28,25 ^(b)	4,32	30,44 ^(b)	3,75	34,76 ^(a)	2,61	29,37 ^(b)	2,41
<i>Leucograma</i>										
Leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	17,51 ^(a)	5,10	12,26 ^(b)	7,81	7,07 ^(bc)	4,01	6,62 ^(c)	2,84	11,68 ^(abc)	6,36
Heterófilos (%)	74,20 ^(a)	10,05	72,25 ^(a)	13,94	72,90 ^(a)	9,36	52,43 ^(b)	17,19	58,67 ^(b)	14,71
Eosinófilos (%)	1,70 ^(a)	3,62	1,00 ^(a)	2,45	0,40 ^(a)	0,70	0,29 ^(a)	0,76	0,50 ^(a)	0,84
Linfócitos (%)	18,40 ^(a)	7,82	22,00 ^(a)	13,59	22,60 ^(a)	9,34	39,86 ^(b)	17,42	38,00 ^(b)	15,28
Linf. Atípicos (%)	0,30 ^(a)	0,48	0,88 ^(a)	0,83	0,50 ^(a)	0,97	0,57 ^(a)	0,79	0,67 ^(a)	1,21
Monócitos (%)	4,00 ^(a)	3,59	3,13 ^(a)	2,30	3,50 ^(a)	2,42	6,71 ^(a)	7,80	2,00 ^(a)	1,67
Bastonetes (%)	0,90 ^(a)	0,74	0,63 ^(b)	1,19	0,00 ^(b)	0,00	0,00 ^(b)	0,00	0,50 ^(ac)	0,55
Metamielócitos (%)	0,00 ^(a)	0,00	0,00 ^(a)	0,00	0,00 ^(a)	0,00	0,00 ^(a)	0,00	0,00 ^(a)	0,00
Basófilos (%)	0,00 ^(a)	0,00	0,00 ^(a)	0,00	0,10 ^(a)	0,32	0,14 ^(a)	0,38	0,17 ^(a)	0,41
<i>Bioquímica Sérica</i>										
Albumina (g/dL)	2,62 ^(a)	0,25	2,64 ^(a)	0,52	2,28 ^(b)	0,32	2,23 ^(b)	0,48	2,44 ^(b)	0,28
Creatinina (mg/dL)	0,75 ^(a)	0,17	0,81 ^(a)	0,01	1,00 ^(a)	0,53	-	-	-	-
Uréia (mg/dL)	55,85 ^(a)	9,31	65,78 ^(a)	19,38	72,73 ^(a)	36,46	51,50 ^(a)	10,55	56,77 ^(a)	16,54
PPT (g/dL)	5,03 ^(a)	0,66	5,45 ^(a)	0,77	5,48 ^(a)	1,08	4,39 ^(a)	1,03	5,06 ^(a)	1,25
Fibrinogênio (mg/dL)	600,00 ^(a)	282,84	480,00 ^(a)	315,52	600,00 ^(a)	261,86	628,57 ^(a)	138,01	366,67 ^(a)	81,65

- As letras minúsculas estão sendo utilizadas na comparação entre as taxas médias, considerando as variáveis analisadas;

- Letras minúsculas iguais, na mesma linha, significa que não há diferença estatística significativa entre as médias.

Observa-se na Tabela 3 os resultados dos testes comparativos entre os grupos controle e experimental (inoculados) por tempo de avaliação para as variáveis hematológicas e bioquímicas.

Constatou-se diferença significativa entre o grupo infectado e controle para as variáveis hematócrito às 192 e 240 horas e volume globular médio (VGM) às 192 horas. Para leucócitos às 48 horas, segmentados em todos os tempos de avaliação, eosinófilos às 192 horas e linfócitos, exceto nos tempos 192

e 240 horas, a albumina com cada um dos tempos de avaliação; a creatinina às 48, 96 e 144 horas; a uréia às 48 e 192 horas e o fibrinogênio às 48, 144 e 192 horas. Para as demais variáveis não se comprovou diferença significativa. As alterações hematológicas observadas no grupo infectado são compatíveis com quadro de infecção bacteriana. Estudos realizados em equinos com mormo por Al Kafawi et al. (1977), Krishma et al. (1992), Bazargani et al. (1996) e Mota et al. (2000) demonstraram leucocitose por neutrofilia. A

nítida elevação na média dos heterófilos a partir das 48 horas da inoculação demonstra um estímulo e demanda tecidual aumentada dessas células e elevada produção e liberação para suprir a demanda tecidual. Segundo Jain

(1993), o número de neutrófilos e monócitos aumentam de acordo com a evolução clínica, ou seja, quanto mais graves os sintomas, mais elevada é a contagem dessas células, enquanto que para os linfócitos, a observação é inversa.

Tabela 3 – Análise de contraste entre médias dos grupos controle e experimental por tempos pós-inoculação, das variáveis do hemograma e bioquímica sérica dos cobaias inoculados com *B. mallei*, Estado de Pernambuco, 2006.

Variáveis	Grupos / horas					
	Controle Média	Experimental				
		48 Média	96 Média	144 Média	196 Média	240 Média
<i>Eritrograma</i>						
Hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	5,54	5,47	5,19	5,28	5,00	5,29
Hematócrito (%)	42,80	43,50	42,10	42,70	35,43*	39,17*
Hemoglobina (g/dL)	12,77	12,39	11,86	12,88	12,04	11,51
VCM (fl)	79,00	80,90	83,92	81,56	74,43	75,18
HCM (pg)	23,55	24,11	23,43	24,43	25,71	22,13
CHGM (%)	29,92	30,01	28,25	30,44	34,76	29,37
<i>Leucograma</i>						
Leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	7,29	17,51*	12,26	7,07	6,62	11,68
Heterófilos (%)	35,00*	74,20*	72,25*	72,90*	52,43*	58,67*
Eosinófilos (%)	5,33	1,70	1,00	0,40	0,29*	0,50
Linfócitos (%)	54,53	18,40*	22,00*	22,60*	39,86	38,00
Linf. atípicos (%)	0,60	0,30	0,88	0,50	0,57	0,67
Monócitos (%)	3,80	4,00	3,13	3,50	6,71	2,00
Bastonetes (%)	0,53	0,90	0,63	0,00	0,00	0,50
Metamielócitos (%)	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Basófilos (%)	0,07	0,00	0,00	0,10	0,14	0,17
<i>Bioquímica Sérica</i>						
Albumina (g/ dL)	3,06*	2,62*	2,64*	2,28*	2,23*	2,44*
Creatinina (mg/ dL)	0,53*	0,75*	0,81*	1,00*	-	-
Uréia (mg/ dL)	64,55	55,85	65,78	72,73	51,50*	56,77
PPT (g/ dL)	5,06	5,03	5,45	5,48	4,39	5,06
Fibrinogênio (mg/ dL)	306,67	600,00*	480,00	600,00*	628,57*	366,67

* - Significativo a 5% pelo teste de Mann-Whitney

Com o objetivo de diagnosticar o mormo utilizando o ensaio biológico em cobaias, é interessante ressaltar que se realize a inoculação em vários animais, pois cada animal em um mesmo grupo pode responder de forma diferente a esta bactéria, corroborando com os achados de Langenegger et al. (1960). Esta observação também foi feita entre os grupos, visto que houve

diferença, principalmente com relação à intensidade dos achados macroscópicos que podem ser considerados como uma possível variação na virulência entre as amostras de *B. mallei* de campo utilizadas neste estudo.

Todos os animais que morreram durante o experimento foram necropsiados para estudo das lesões macroscópicas nos diferentes órgãos. As lesões mais frequentes

observadas foram a vaginalite purulenta, aderência dos folhetos da túnica vaginal, piogranulomas na bolsa escrotal (Figura 2) e múltiplos abscessos no fígado, pulmões, baço, omento da curvatura maior do estômago, rins e no ponto de inoculação, concordando com os achados descritos por Langenegger et al. (1960), Bier (1984) e Mota et al. (2000).

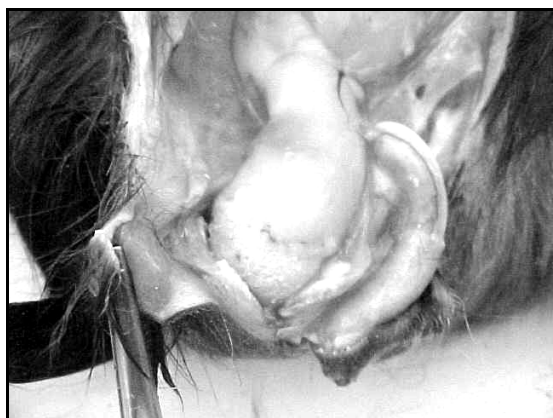


Figura 2 - Infecção experimental em cobaia (*Cavia porcellus*) pela *Burkholderia mallei*. Vaginalite com espessamento da túnica e áreas de aderência, 10 dias pós-inoculação.

Dos cobaias inoculados e necropsiados às 48, 96, 144, 196 e 240 horas, coletou-se material com o objetivo de recuperar a bactéria. Utilizou-se para tal, a secreção purulenta presente entre os folhetos da túnica vaginal ou dos abscessos no ponto de inoculação e dos diferentes órgãos. Dos 46 cobaias utilizados para este fim foi possível recuperar a *B. mallei* em 100% dos casos, confirmando desta forma, a etiologia da doença.

Com os resultados obtidos neste estudo, observou-se a predominância de lesões testiculares nos animais, resultando em prova de Strauss positiva, confirmando desta forma os resultados dos exames sorológicos, cultura e provas bioquímicas das bactérias isoladas. Neste caso, a prova de Strauss foi 100% concordante com os demais métodos utilizados para o diagnóstico da doença nos animais clinicamente doentes. Convém

salientar que em alguns casos consegue-se o isolamento da bactéria dos nódulos fechados, mesmo o equídeo sendo sorologicamente negativo.

Conclusão

Os aspectos clínicos e anátomo-patológicos observados neste estudo indicam que existem diferenças no comportamento entre as amostras de *B. mallei* isoladas de eqüinos com mormo nos Estados de Pernambuco e Alagoas, possivelmente devido a variações na virulência das amostras de campo. A prova de Strauss, positiva para todos os grupos foi às 48 horas após a inoculação, é muito sensível para o diagnóstico precoce e complementar da doença, demonstrando ser o cobaia, um excelente modelo para a reprodução experimental.

Referências

- AL-ANI, F.K. et al. Glanders in horses: clinical and epidemiological studies in Iraq. **Paquistan Veterinary Journal**, v.7, p.126-129, 1987.
- AL-KAFAWI, A.A. et al. Haematological changes in Arabian horses infected with glanders. **Veterinary Record**, v.101, p.427, 1977.
- BAZARGANI, T.T. et al. The outbreak of glanders in some racehorses in three states of Iran. **Journal Equine of Veterinary Science**, v.16, n.6, p.232-236, 1996.
- BIER, O. Microbiologia e Imunologia. **São Paulo: Editora Melhoramento, 1984.1106p.**
- JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.
- KANECO, J.J. **Clinical biochemistry of domestic animals**. New York: Academic Press, 1989. 832p.
- KRISHNA, L. et al. Pathomorfological study of possible glanders in solipeds in himachal pradesch. **Indian Veterinary Journal**, v.69, p.211-214, 1992.
- LANGENEGGER, J. et al. Foco de mormo (*Malleus*) na região de Campos, estado do Rio de Janeiro. **Arquivos do Instituto Biológico Animal**, v.3, p.91-108, 1960.
- MOTA, R.A. et al. Mormo em eqüídeos nos

estados de Pernambuco e Alagoas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.20, n.4, p.155-159, 2000.

MOTA, R.A. et al. Influência de bactérias isoladas de lesões das vias aéreas superiores no diagnóstico microbiológico do mormo em eqüídeos. **Veterinária Notícias**, v.10, n.1, p.41-46, 2004.

PIMENTEL, W. História e organização do serviço veterinário do exército. **Revista Militar de Medicina Veterinária**, v.1, n.4, p.283-322, 1938.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia. 1998. 221p.