

Universidade Federal de Minas Gerais
Escola de Veterinária
Conselho de Pós-Graduação

TUBERCULINIZAÇÃO DE BOVINOS COM INJETOR A JATO

Gilmar de Oliveira Leite

Belo Horizonte
Minas Gerais
1989

Gilmar de Oliveira Leite

TUBERCULINIZAÇÃO DE BOVINOS COM INJETOR A JATO

Tese apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Área: Medicina Veterinária Preventiva

Belo Horizonte
Minas Gerais
1989

636.089 699 5

L533t Leite, Gilmar de Oliveira, 19

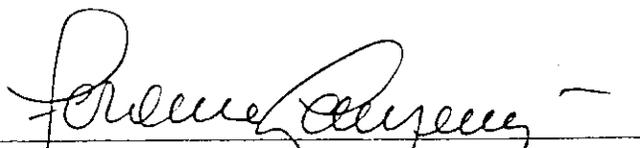
Tuberculinização de bovinos com injetor a jato./Gilmar de Oliveira Leite.— Belo Horizonte: Escola de Veterinária, 1989.

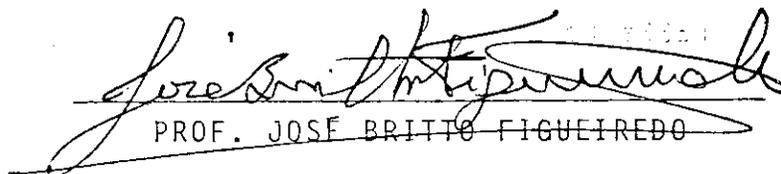
p. : il.—

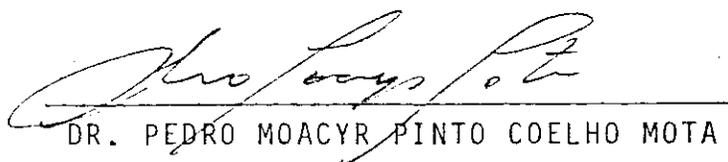
Tese (Mestrado)

1. Tuberculina. 2. Injetor hipodérmicos a jato. 3. Tuberculose- Diagnóstico. I. Título.

Aprovada em: 14/12/1989


DR. JEROME LANGENEGGER
Orientador


PROF. JOSÉ BRITTO FIGUEIREDO


DR. PEDRO MOACYR PINTO COELHO MOTA


PROF. ELVIO CARLOS MOREIRA

À memória de
minha mãe.

À minha família

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Jerome Langenegger, pela amizade, incentivo e valiosa orientação.

Ao Prof. Rômulo Cerqueira Leite, pela amizade, ensinamentos e orientação na minha carreira.

À Dr^a Charlotte Hubinger Langenegger, pesquisadora da EMBRAPA, pela amizade consideração e ensinamentos.

À todos os funcionários da UAPNPSA-EMBRAPA km 47 - Rio de Janeiro.

Aos professores do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva pelos conhecimentos a nós transmitidos.

Aos funcionários da Biblioteca da Escola de Veterinária da UFMG pela colaboração nos trabalhos de consulta e correção bibliográfica.

Ao colega Henrique, pela ajuda nas análises estatísticas.

Aos colegas do Curso de Mestrado, pela amizade, consideração e estímulo.

Aos criadores que cederam os rebanhos para a realização deste trabalho.

À Vitajet Indústria e Comércio Ltda, pelo fornecimento dos aparelhos.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa-CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

À UAPNPSA-EMBRAPA pela concessão das instalações e pelo apoio financeiro recebido.

Ao LANARA/MA pelo apoio recebido.

Ao Dr. Guido de Caux, pelos trabalhos de revisão.

Ao Sr. José Moura de Oliveira, pelos trabalhos dactilográficos.

Ao colega Ronaldo Sanches pelas fotografias e pelo estímulo.

À todos aqueles que de alguma maneira possibilitaram a realização deste trabalho.

RESUMO

Um injetor a jato para aplicação de insulina no homem foi utilizado para a tuberculinização de bovinos, aumentando-se de 60 para 90 kgf a pressão da mola. Em 10 bovinos foi inoculado via intradérmica, tuberculina com tinta de nanquim a 3% através do injetor a jato e da seringa convencional simultaneamente; observou-se macro e microscopicamente, distribuição homogênea na derme sem atingir o tecido subcutâneo e sem diferença aparente nos dois métodos de inoculação. A tuberculinização pela seringa convencional e pelo injetor a jato foi realizada em 398 bovinos pertencentes a seis rebanhos com e sem tuberculose. A eficiência da tuberculinização foi avaliada através da comparação dos resultados da reação alérgica e da intensidade da reação em cada animal. Dos 306 bovinos de cinco rebanhos com tuberculose, a tuberculinização comparativa simples com as tuberculinas PPDs bovina e aviária, feitas simultaneamente na região da omoplata, revelou 134 (43,79%) positivos, 72 (23,53%) suspeitos e 100 (32,68%) negativos, pela seringa convencional; e 137 (44,77%) positivos, 68 (22,22%) suspeitos e 101 (33,01%) negativos pelo injetor a jato. A intensidade da reação alérgica, avaliada pelo aumento da espessura da dobra da pele (AEDP), revelou aumento médio de 3,14 mm e 3,16 mm pela tuberculinização com a seringa convencional e com injetor a jato respectivamente. As diferenças encontradas não são

estatisticamente significativas. Concluindo-se que a técnica de tuberculinização com injetor a jato é eficiente e pode ser utilizada na rotina veterinária.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. LITERATURA CONSULTADA.....	03
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	08
3.1. Local de trabalho.....	08
3.2. Descrição dos injetores.....	08
3.2.1. Seringa convencional.....	09
3.2.2. Injetor a jato.....	09
3.3. Tuberculinas.....	12
3.4. Distribuição da tuberculina na pele dos bovinos após a inoculação pela seringa convencional e pelo injetor a jato.....	12
3.4.1. Animais utilizados.....	12
3.4.2. Inoculação da tuberculina com corante...	12
3.4.3. Biopsia da pele.....	12
3.4.4. Fixação e processamento do material.....	13
3.5. Comparação entre a tuberculinização feita com a seringa convencional e com o injetor a jato em bovinos.....	13

	Página
3.5.1. Descrição dos rebanhos.....	13
3.5.2. Inoculação da tuberculina.....	14
3.5.2.1. Através da seringa convencional	14
3.5.2.2. Através do injetor a jato.....	15
3.5.3. Leitura e interpretação dos resultados..	15
3.5.4. Análise estatística.....	15
4. RESULTADOS.....	19
4.1. Distribuição da tuberculina na pele dos bovinos após a inoculação pela seringa convencional e pelo injetor a jato.....	19
4.1.1. Descrição anatômica.....	19
4.1.2. Descrição histológica.....	19
4.2. Resultados da tuberculinização com a seringa convencional e com injetor a jato em bovinos de rebanhos com e sem tuberculose.....	20
4.2.1. Tuberculinização em 306 bovinos de rebanho com tuberculose.....	20
4.2.2. Tuberculinização em rebanho livre de tuberculose.....	21
4.2.3. Formação de pápula, sangramento e perdas de tuberculinas no ponto de inoculação..	21
4.2.4. Sensibilidade dolorosa, presença de exsudato e necrose no ponto de inoculação.	22
5. DISCUSSÃO.....	33
6. CONCLUSÃO.....	37
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA I - Difusão da tuberculina inoculada pela seringa convencional e pelo injetor a jato na pele dos bovinos, a julgar pela área corada com tinta nanquim.....	23
TABELA II - Tuberculinização com PPD bovina inoculada através da seringa convencional (SC) e do injetor a jato (IJ) em bovinos de rebanhos com tuberculose.....	24
TABELA III - Tuberculinização com PPD aviária inoculada através da SC e do IJ em bovinos de rebanhos com tuberculose.....	25
TABELA IV - Tuberculinização comparativa simples com PPDs bovina e aviária realizada através da SC e do IJ em bovinos de rebanhos com tuberculose.....	26
TABELA V - Aumento da espessura da dobra da pele (AEDP) médio obtido com a PPD bovina inoculada com SC e com IJ em bovinos de rebanhos com tuberculose.....	27

TABELA VI	- AEDP médio obtido com PPD aviária inoculada com SC e com IJ em bovinos de rebanhos com tuberculose.....	28
TABELA VII	- AEDP médio obtido pela tuberculinização comparativa simples com PPDs bovina e aviária realizada com SC e IJ em bovinos de rebanhos com tuberculose.....	29
TABELA VIII	- AEDP médio obtido com PPD bovina inoculada com SC e com IJ em bovinos de rebanhos com tuberculose, segundo a intensidade da reação.....	30
TABELA IX	- AEDP pela PPD aviária inoculada com SC e com IJ em bovinos de rebanhos com tuberculose, segundo a intensidade da reação.....	31
TABELA X	- AEDP médio pela tuberculinização comparativa simples com PPDs bovina e aviária realizadas com SC e com IJ em bovinos de rebanhos com tuberculose, segundo a intensidade de reação.....	32

LISTA DE QUADROS

	Página
QUADRO 1 - Chave modificada de interpretação da tubercu linicação simultânea segundo LANGENEGGER (1981)	17
QUADRO 2 - Chave modificada de interpretação da tubercu linização simples segundo LANGENEGGER (1981)	18

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 - Seringa convencional "McLintock".....	10
FIGURA 2 - Injetor a jato "Vitajet".....	11

1. INTRODUÇÃO

A tuberculose bovina constitui-se importante problema econômico e social. Ao lado dos prejuízos ocasionados à bovinocultura, existe o risco de ser disseminada a outras espécies domésticas, silvestres e também ao próprio homem. Esta enzootia, mais disseminada em rebanhos leiteiros, vem passando de sápercebida pelos produtores e pelas autoridades sanitárias de nosso país, com consequente aumento da prevalência.

A evolução crônica da tuberculose, a falta ou variedade de sintomas e lesões, somadas ao lento crescimento do *Mycobacterium bovis* no exame bacteriológico, fazem com que o diagnóstico clínico, anátomo-histopatológico e bacteriológico tenha valor relativo para o rápido saneamento dos rebanhos afetados. O diagnóstico alérgico, ao contrário, detecta a infecção precocemente, e com o aperfeiçoamento das tuberculinas e técnicas de tuberculinização, alcança alta sensibilidade e especificidade, que o torna de grande importância na luta contra essa doença.

As tuberculinas recomendadas atualmente para o diagnóstico específico e diferencial da tuberculose bovina são as PPDs "Purified Protein Derivative" bovina e aviária. Na produção destas, as tuberculo-proteínas são separadas do meio de cultura por precipitação química (HUITEMA, 1972), e, consequentemente, há aumento da especificidade em relação às tuberculi-

nas HCSM "Heat Concentrated Synthetic Medium" e OT "Old Tuberculin" (FRANCIS et alii, 1973; CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSES, 1980). A tuberculina PPD para diagnóstico da tuberculose bovina pode ser preparada a partir de *M. tuberculosis* ou *M. bovis*. Entretanto, atualmente, a maioria dos países utiliza a amostra bovina AN₅ de *M. bovis* por apresentar melhor sensibilidade e especificidade (FRANCIS et alii, 1973; LESLIE et alii, 1975; ROSWRM et alii, 1979). A tuberculina PPD aviária é elaborada com as amostras D₄ e 20485 e é utilizada para excluir reações inespecíficas com micobactérias atípicas (LESLIE et alii, 1972; LANGENEGGER et alii, 1981).

Os métodos de tuberculinização compreendem as provas oftálmica, subcutânea, intravenosa e intradérmica. Esta última vem sendo aplicada na prega anocaudal, nas regiões cervical ou escapular e pode ainda ser simples ou comparativa (HUITEMA, 1972). A prova que melhor combina sensibilidade e especificidade é a intradérmica simples comparativa, com as tuberculinas PPDs bovina e aviária, inoculadas na pele das regiões cervical ou escapular (LANGENEGGER et alii, 1981). A injeção, quando realizada em bovinos mansos, como os de raças europeias, é mais fácil, mas quando realizada em animais azebuados, mais irrequietos, torna-se difícil, perigosa e demorada. Além destes aspectos, a seringa que se utiliza é importada, o que torna difícil e oneroso sua aquisição.

Considerando estes aspectos, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência da tuberculinização com injetor da marca "Vitajet", produzido pela indústria nacional, que inocula tuberculina por pressão.

2. LITERATURA CONSULTADA

KRANTZ (1959) na França, idealizou um instrumento sem agulha, denominado "Dermo-jet", com o qual pode-se inocular pequenas quantidades de líquido na pele, por meio de alta pressão. Neste instrumento, a compressão da mola de aço é feita por meio de alavanca manual. O disparo é dado por meio de botão que aciona o êmbolo para dentro da câmara de compressão, e através de pequeno orifício, o líquido que aflui para a câmara no ato da compressão da mola, é violentamente ejetado com força suficiente para penetrar na pele. Não há indicação da força da mola e do diâmetro do orifício ejetor.

O "Dermo-jet" foi testado pela primeira vez na medicina veterinária por CHOBERT et alii (1960), os quais inocularam líquido com tinta de nanquim na pele de cães e também de duas vacas. Verificaram que o corante penetrava até 4 mm na pele das vacas, com o aparelho, por ocasião do disparo, levemente apoiado na pele; mas quando foi colocado um espaçador de 1,0 cm, o líquido com corante penetrava somente até 2 mm. O ato da inoculação parecia indolor. Diante de tais resultados os autores sugeriram que o aparelho pudesse ser utilizado para tuberculinizar animais.

CHOBERT (1960), usando o "Dermo-jet" para o diagnóstico alérgico da tuberculose em bovinos, aplicou tuberculina na pele de um lado do pescoço, e ao mesmo tempo, inoculou no lado

oposto o alérgeno por meio da seringa com agulha, para comparar os resultados:

No experimento "A" foram tuberculinizados 99 animais, dos quais oito reagiram positivamente ao teste convencional e somente cinco animais apresentaram reações positivas quando a tuberculina foi inoculada com instrumento sem agulha. O autor atribui esta diferença à falha de inoculação da tuberculina.

No experimento "B" foram tuberculinizados 404 bovinos. No teste convencional houve 45 reações positivas e 12 suspeitas, enquanto no teste com injetor sem agulha houve 46 reações positivas e duas suspeitas. O autor verificou neste experimento, que quatro animais positivos pela tuberculinização com "Dermo-jet" não apresentaram o mesmo resultado pelo método convencional e, outros três casos positivos pelo método convencional não foram detectados pelo "Dermo-jet".

No experimento "C", foram testados mais 724 bovinos com 87 reagentes positivos para ambos os métodos de tuberculinização. Verificou-se, ainda, discordância entre as reações suspeitas, cujo número era maior pelo método convencional (26 casos), do que pelo "Dermo-jet" (09 casos). O autor concluiu que é método simples e rápido de tuberculinização sem necessidade de contenção maior do animal.

KRAFT (1962), na Alemanha, comparou também simultaneamente, a tuberculinização através da seringa convencional e do "Dermo-jet", em 160 bovinos procedentes de 30 rebanhos. A inoculação com seringa convencional mostrou-se mais sensível, apresentando maiores reações alérgicas, avaliadas pelo aumento da espessura da dobra da pele (AEDP) e também maior sensibilidade dolorosa no local da inoculação. Na tuberculinização pelo método convencional, 23 animais reagiram positivamente e 11 deram reações suspeitas, enquanto no teste com injetor sem agulha, apenas 13 animais apresentaram reações positivas e 10 deram reações suspeitas. O AEDP, em média, foi 54% menor pelo injetor sem agulha, e a sensibilidade dolorosa foi 28% menor por

este método em comparação ao método convencional.

KRÄFT (1962) avaliou ainda os dois métodos de inoculação da tuberculina em bovinos sob os seguintes aspectos:

a) Formação de pápula no ponto de inoculação - na inoculação pela seringa convencional formaram-se pápulas do tamanho de lentilhas na pele, palpáveis com a ponta do dedo, em todos os animais, enquanto na inoculação com "Dermo-jet" formaram pápulas em apenas 115 (71,8%) dos bovinos.

b) Sangramento no local de inoculação - não há referência sobre a inoculação com agulha, mas a injeção por pressão provocou o surgimento de uma gota de sangue em 17 animais, em 23, meia gota e ainda em 14 um ponto avermelhado.

c) Perda de tuberculina no local de inoculação - a inoculação intradérmica pelo injetor a jato revelou que parte da tuberculina não penetrava na pele. Em 11 casos refluiu uma gota e nos demais havia umidade sobre a pele, após o disparo do aparelho. O autor concluiu que apenas um décimo da dose seria injetada.

SVOZTCHIC et alii (1973), na Rússia, inoculando tuberculina através do injetor a jato e da seringa com agulhas, verificaram que as reações locais caracterizadas por inflamação e dor eram semelhantes para ambos os métodos de inoculação. Concluíram que a tuberculinização com injetor a jato é um método eficiente e, devido a sua praticidade, poderia ser usado como substituto da seringa convencional na tuberculinização de bovinos.

NOVAK et alii (1974) na Rússia, estudando as possibilidades de emprego de inoculadores sem agulha, utilizaram o inoculador médico "IMB-4" para inocular tuberculina em bezerrinhos e cobaios previamente sensibilizados com a vacina BCG. Testaram doses de 10.000 UI de tuberculina em diferentes volumes de solvente (0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25; 0,30 ml), inoculados na pele da região do terço médio do pescoço dos bovinos e em cobaios na parte lateral do tronco, em três pontos de cada la-

do. Verificaram que a tumefação no ponto de inoculação e o diâmetro da lesão inflamatória era maior com a diluição da tuberculina. Concluíram que com o aumento da diluição diminuem as perdas de tuberculina no ato da inoculação, melhorando a eficiência do teste.

Considerando a viabilidade de tuberculinizar bovinos com inoculador de pressão, NOVAK et alii (1974) construíram e aprovaram o inoculador sem agulha "IMB-10", para a inoculação intradérmica de preparados, com diferentes concentrações, em doses de 0,05 a 0,25 ml. A capacidade do cilindro era de 10 ml, possibilitando assim fazer 40 a 200 inoculações com uma só carga. Após a inoculação de 0,2 ml do líquido, formavam-se tuberosidades com diâmetro superior a 8 mm.

O inoculador a jato "IMB-10" foi testado na tuberculinização intradérmica de bovinos e comparado com a seringa convencional por NOVAK et alii (1974), nos seguintes experimentos:

a) Utilizaram dez animais de abate nos quais injetaram tuberculina marcada com azul de metileno, através da seringa convencional, em um lado do pescoço e no outro com inoculador a jato. A mensuração do diâmetro do edema inflamatório não revelou diferenças significativas entre os dois métodos.

b) Pesquisaram a intensidade da reação alérgica, após a inoculação de tuberculina pela seringa convencional e pelo injetor a jato, em 124 vacas com tuberculose. Verificaram que o número de reações positivas, suspeitas e negativas era igual pelos dois métodos.

c) Avaliaram a sensibilidade e especificidade da tuberculinização com injetor sem agulha, em 20 bezerros sensibilizados com a vacina BCG e em 14 de um grupo controle. Em 19 animais sensibilizados a reação foi positiva e nos 14 do grupo controle a reação foi negativa.

Para estudar a produtividade de trabalho, dispensados com os dois métodos de inoculação da tuberculina, NOVAK et

alii (1974) selecionaram 254 vacas, que foram divididas em dois grupos iguais, um tuberculinizado com inoculador sem agulha e outro com a seringa convencional. Na inoculação da tuberculina com injetor sem agulha foram gastos 35 minutos, enquanto na inoculação com seringa convencional gastaram-se 95 minutos, além de exigir dois trabalhadores a mais para a contenção dos animais.

O inoculador sem agulha IMB-10 foi indicado e aprovado pelos veterinários sanitaristas de Novousmanski e Kalatchevski na região de Varoneje (URSS), para a tuberculinização de 5.000 cabeças de gado bovino. Este mesmo inoculador foi testado por uma comissão em laboratório para estudo de novos instrumentos do Instituto de Kazaviski e liberado para a tuberculinização de 10.000 cabeças de gado, nos Colkohoses Kamskoustinski, Niezhne-Kamski, regiões da TACCP (República Socialista Soviética, autônoma da Tartária) (NOVAK et alii, 1974).

DONTCHENKO & MAIER (1979) referiram-se a problemas encontrados com maior freqüência nos inoculadores sem agulha. Concluíram que a maioria dos inoculadores tornava-se inoperantes por razões técnicas e argumentaram que a exploração de tais aparelhos pode aumentar bastante com a criação de oficinas especiais para reparo destes e também com o fornecimento de peças de reposição ao mercado.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local de trabalho

Os trabalhos experimentais foram desenvolvidos nas dependências da Unidade de Apoio ao Programa Nacional de Pesquisa em Saúde Animal (UAPNPSA), EMBRAPA, Seropédica, Rio de Janeiro e também no campo, em propriedades localizadas nos estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais e São Paulo, no período de março de 1987 a julho de 1988.

3.2. Descrição dos injetores

Foi utilizada a seringa convencional com agulha, da marca McLintock*, especial para a tuberculinização de bovinos e o injetor a jato da marca Vitajet**, utilizado para a automedicação de insulina em pessoas diabéticas (BENCHIMOL & ARDUINO, 1984). O injetor a jato foi modificado para a tuberculinização de bovinos, aumentando-se a pressão ejetora de 60 para 90 quilogramas-força (Kgf).

* McLintock, Ewos (UK) Ltd, Westfield by Bathgate, West Lothian EH 48 3BP., England.

** Vitajet, manufaturado pela Vitajet Indústria e Comércio Ltda, Rua Belizário Pena, 688 - Penha, Rio de Janeiro - Brasil.

3.2.1. Seringa convencional

O instrumento consta de um cilindro metálico com alavanca de pressão para impulsionar o êmbolo, mola, tubo guia, pivô de graduação para 0,1 ml, lingueta denteada, suporte para apoiar os dedos no ato da inoculação, êmbolo de aço inoxidável, câmara com capacidade de armazenar 2,0 ml de tuberculina e bocal para adaptar agulhas curtas e finas (FIG. 1).

Para carregar o aparelho, aspiram-se 2,0 ml de tuberculina diretamente do frasco de origem, e a tuberculina assim obtida é inoculada na dose de 0,1 ml na pele dos animais, perfazendo um total de 20 inoculações por carga.

3.2.2. Injetor a jato

O instrumento consta de cilindro metálico, com botão de disparo e manivela para armar o aparelho na extremidade distal. Na extremidade proximal, está localizado o bico ejetor, onde foi incrustado um cristal de safira, com orifício medindo 0,06 polegadas de diâmetro. No seu interior, acomoda mola de aço inoxidável, que resulta em pressão equivalente a 90 kgf por ocasião do disparo, câmara transparente de vidro com capacidade de armazenar 0,1 ml de tuberculina e pistão de aço inoxidável que projeta a tuberculina da câmara transparente em direção ao bico ejetor (FIG. 2).

Antes de comprimir a mola, para armar o aparelho, adapta-se o frasco de tuberculina, por meio de agulha, a um dispositivo de plástico e acopla-se este ao bico ejetor. Aciona-se a manivela até obter pressão máxima. Faz-se o mesmo movimento no sentido contrário, a fim de aspirar o líquido para a câmara transparente de vidro. Após esta operação, desacopla-se o dispositivo com o frasco de tuberculina. Apóia-se o bico do injetor levemente sobre a pele dos animais e com o dedo polegar aperta-se o botão de disparo. Desse modo, a tuberculina é impulsionada pelo pistão em direção ao orifício do bico ejetor, com

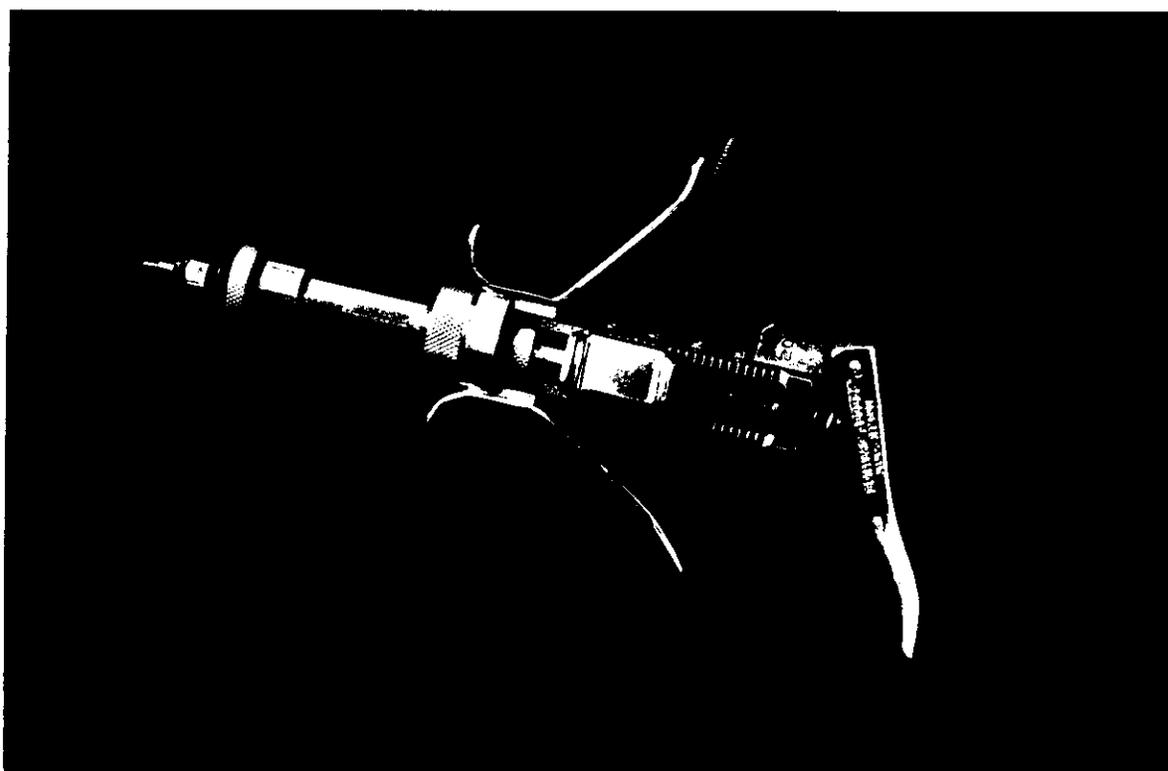


FIGURA 1 - Seringa convencional "McLintock"

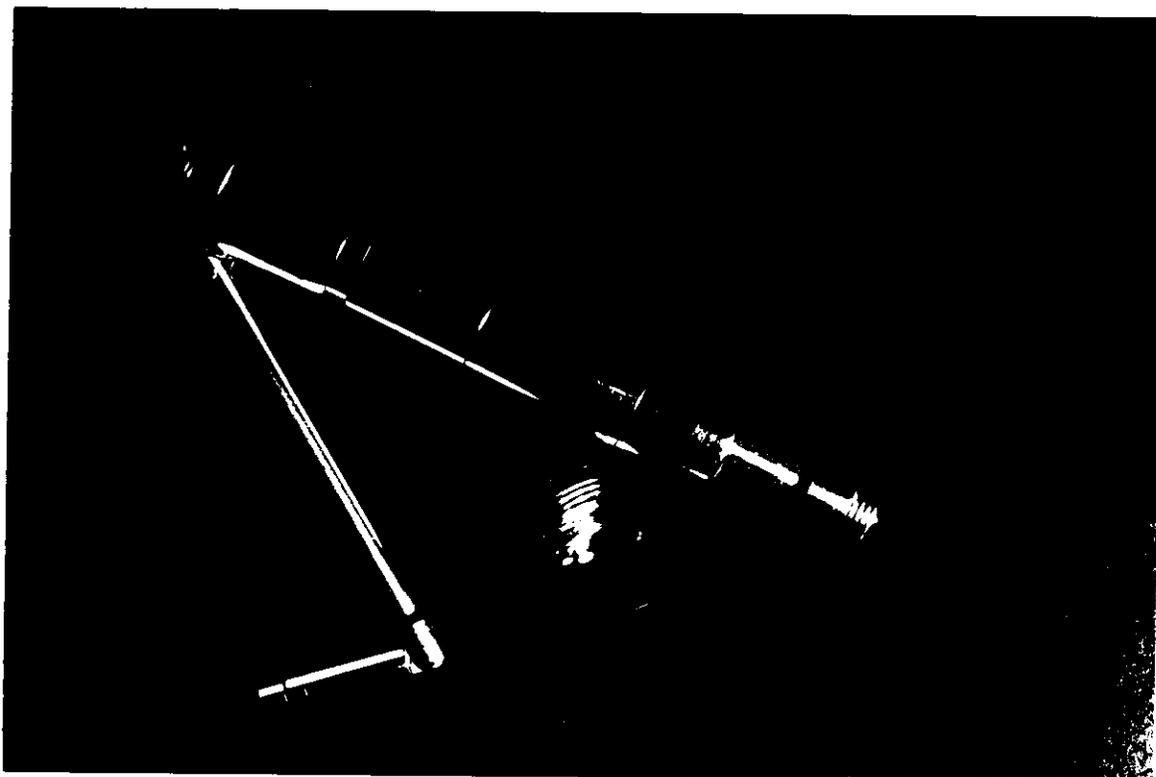


FIGURA 2 - Injetor a jato "Vitajet"

força suficiente para penetrar na pele e difundir-se intradermicamente formando uma pápula.

3.3. Tuberculinas

As tuberculinas utilizadas foram produzidas pela UAPNPSA - EMBRAPA, que utiliza a amostra AN₅ de *Mycobacterium bovis* para a elaboração da tuberculina PPD bovina, estandardizada com a concentração de 50.000 UI/ml e as amostras D₄ e 20485 de *Mycobacterium avium* para a elaboração da tuberculina PPD aviária estandardizada com a concentração de 25.000 UI/ml.

3.4. Distribuição da tuberculina na pele dos bovinos após a inoculação pela seringa convencional e pelo injetor a jato

3.4.1. Animais utilizados

Foram utilizados dez bovinos mestiços Holandes-Zebu que apresentaram espessura da dobra da pele na região escapular entre 4,0 e 8,5 mm. Os animais eram livres de tuberculose e pertenciam a UAPNPSA-EMBRAPA.

3.4.2. Inoculação da tuberculina com corante

À tuberculina foram adicionados 3% de tinta de nanquim, e 0,1 ml desta mistura foi inoculada intradermicamente com a seringa convencional na pele previamente depilada, da região do omoplata esquerdo de cada animal. O mesmo procedimento foi executado com injetor a jato na pele do omoplata direito de cada animal.

3.4.3. Biopsia da pele

Logo após a inoculação da tuberculina com corante

foi retirado, cirurgicamente, uma porção da pele em forma de elipse, com 2,0 cm de largura e 7,0 cm de comprimento, tendo como centro o ponto de inoculação.

3.4.4. Fixação e processamento do material

Os espécimes de pele foram fixados em formalina 10% durante dois dias, posteriormente processados em álcool e xilol, incluídos em blocos de parafina. Os blocos foram cortados em micrótomo histológico convencional e os cortes, com 5,0 μ de espessura, foram corados por hematoxilina-eosina.

3.5. Comparação entre a tuberculinização feita com a seringa convencional e com o injetor a jato em bovinos.

3.5.1. Descrição dos rebanhos

As duas técnicas tiveram seus resultados comparados em teste de campo, envolvendo cinco rebanhos com animais tuberculosos. A escolha dos rebanhos foi ao acaso, partindo da solicitação de médicos veterinários de campo à UAPNPSA-EMBRAPA no sentido de confirmar o diagnóstico e orientar no combate dessa doença.

Rebanho A - composto de 205 animais da raça Holandesa, em diferentes faixas etárias, com 25 animais reagentes, localizado no município de Três Corações, estado de Minas Gerais.

Rebanho B - composto de 598 animais da raça Honandesa, em diferentes faixas etárias, com 46 animais reagentes, localizado no município de Rezende, estado do Rio de Janeiro.

Rebanho C - composto de 158 animais mestiços Holandês-Zebu, em diferentes faixas etárias, com 53 animais reagentes, localizado no município de São José dos Barreiros, estado de São Paulo.

Rebanho D - composto de 327 animais da raça Holandesa, em diferentes faixas etárias, com 80 animais reagentes, localizado no município de Itanhandu, estado de Minas Gerais.

Rebanho E - composto de 259 animais com grau de sangue variando do mestiço Holandês-Zebu ao Holandês puro, em diferentes faixas etárias, com 102 animais reagentes, localizados no município de São José dos Barreiros, estado de São Paulo.

As duas técnicas foram também comparadas em rebanho livre de tuberculose, porém com 11% de animais com reações inespecíficas, localizado no município de Três Corações-MG. Neste rebanho foram tuberculinizados 92 animais mestiços Holandês Zebu em diferentes faixas etárias.

Os bovinos com tuberculose dos rebanhos A, B, C, D e E estavam em tratamento com izoniazida, muitos na fase de cura, motivo pelo qual havia entre eles animais com reações suspeitas e mesmo sem reações.

3.5.2. Inoculação da tuberculina

3.5.2.1. Através da seringa convencional

Foi executada a tuberculinização comparativa simples, com tuberculina aviária PPD e tuberculina bovina PPD na concentração de 2.500 UI e 5.000 UI por dose, respectivamente. As tuberculinas aviária e bovina foram inoculadas intradermicamente na região do omoplata esquerdo de cada animal; a primeira foi inoculada anterior e a segunda posteriormente à espinha acromiana do omoplata, em áreas previamente depiladas, de tamanho 4 x 4 cm e equidistantes cerca de 15 cm. A medida da espessura da dobra da pele foi realizada com cutímetro da marca Hauptner*, antes da tuberculinização e após na ocasião da leitura. Os dados obtidos foram registrados em formulário pró-

* Hauptner, Kuller Str. 38-44, D-5650 Solingen 22, Alemanha Ocidental.

prio.

No ato da inoculação, foram ainda observados presença de pápula, perda ou refluxo de tuberculina e sangramento no local de inoculação.

3.5.2.2. Através do injetor a jato

Procedeu-se de modo igual ao descrito no tópico anterior, sendo que, neste caso, a inoculação das tuberculinas foi realizada intradermicamente na região do omoplata direito de cada animal. Foi também registrado a presença da pápula, perda ou refluxo da tuberculina e sangramento no local de inoculação.

3.5.3. Leitura e interpretação dos resultados

A leitura foi realizada 72 horas após a inoculação (LEPPER et alii, 1977; CORNER et alii, 1978; FRANCIS et alii, 1978). Nesta ocasião foram registrados aumento da espessura da dobra da pele (AEDP), sensibilidade dolorosa, presença de exudato ou de necrose no local de inoculação da tuberculina.

A interpretação da tuberculinização, visando ao diagnóstico da tuberculose bovina, obedeceu a chave da tuberculinização comparativa (simultânea) segundo LANGENEGGER et alii (1981) QUADRO 1.

Para os objetivos da presente pesquisa, a interpretação de cada reação resultante da tuberculinização com as tuberculinas PPD bovina e aviária foram analisadas como se fossem feitas isoladamente; por isso foram interpretadas pela chave de tuberculinização simples segundo LANGENEGGER (1981).

3.5.4. Análise estatística

A equivalência entre as reações positivas, suspeitas e negativas obtidas pelo método convencional e pelo inje-

tor a jato foram comparadas através da prova do " χ^2 " e a média da intensidade das reações, entre as tuberculinas aviária e bovina pelos dois métodos acima citados foram comparados através do teste de "t" de Student (SNEDECOR & COCHRAN, 1967).

QUADRO 1 - Chave modificada de interpretação da tuberculinização simultânea segundo LANGENEGGER et alii (1981)

Testes simultâneo	Diferença do AEDP* (mm)	Resultado (tuberculose)
TB** menor que TA***	-	Negativo
TB maior que TA	0,0 - 1,9	Negativo
TB maior que TA	2,0 - 2,9	Suspeito
TB maior que TA	3,0 ou mais	Positivo

* Aumento da espessura da dobra da pele.

** Tuberculina bovina.

*** Tuberculina aviária.

QUADRO 2 - Chave modificada de interpretação da tuberculinização simples segundo LANGENEGGER et alii (1981)

AEDP* mm	Sensibilidade	Consistência	Outras alterações	Resultado
0,0 - 1,9	Sem dor	Endurecida	Ausentes	Negativo
2,0 - 3,9	Pouca dor	Endurecida	Ausentes	Suspeito
4,0 ou mais	Pouca dor	Endurecida	Ausentes	Positivo
3,0 ou mais	Muita dor	Macia	Esudato necrose	Positivo

* Aumento da espessura da dobra da pele.

4. RESULTADOS

4.1. Distribuição da tuberculina na pele dos bovinos após a inoculação pela seringa convencional e pelo injetor a jato

4.1.1. Descrição anatômica

Macroscopicamente observou-se, pela coloração da tinta nanquim, que a tuberculina inoculada pela seringa convencional e pelo injetor a jato distribuiu-se de maneira homogênea na pele, em forma ligeiramente circular, penetrando, em média até 4,2 mm na profundidade, quando inoculada com a seringa convencional e 4,3 mm, quando inoculada com injetor a jato. No sentido horizontal à pele, a tuberculina difundiu-se mais amplamente numa área média de 9,9 mm e 10,4 mm de diâmetro quando inoculada pela seringa convencional e injetor a jato, respectivamente. Os resultados estão apresentados na TAB. I.

4.1.2. Descrição histológica

Histologicamente a tuberculina inoculada pelos dois métodos acima citados difundiu-se uniformemente entre as estruturas da pele, a julgar pelos grumos do corante encontrados entre o tecido conjuntivo da derme, próximo a vasos sanguí-

neos, glândulas sudoríparas, glândulas sebáceas, folículos pilosos sem contudo penetrar no tecido subcutâneo.

4.2. Resultados da tuberculinização com a seringa convencional e com injetor a jato em bovinos de rebanhos com e sem tuberculose

4.2.1. Tuberculinização em 306 bovinos de rebanho com tuberculose

A tuberculinização com PPD bovina revelou 168 (54,90%) bovinos com reação positiva, 102 (33,33%) com reação suspeita e 36 (11,77%) sem reação, quando a tuberculina foi inoculada com seringa convencional e 178 (58,17%) bovinos com reação positiva, 99 (32,35%) com reação suspeita e 29 (9,48%) sem reação, quando inoculada com injetor a jato (TAB. II).

A tuberculinização com PPD aviária revelou 51 (16,67%) bovinos com reação positiva, 58 (18,95%) com reação suspeita e 197 (64,38%) sem reação quando a tuberculina foi inoculada com seringa convencional e 55 (17,97%) bovinos com reação positiva, 59 (19,28%) com reação suspeita e 192 (62,75%) sem reação quando inoculada com injetor a jato (TAB. III).

O teste comparativo simples com as tuberculinas PPD bovina e aviária revelou 134 (43,79%) bovinos positivos, 72 (23,53%) suspeitos e 100 (32,68%) negativos para a tuberculinização com seringa convencional e 137 (44,77%) bovinos positivos, 68 (22,22%) supeitos e 101 (33,01%) negativos para a tuberculinização com injetor a jato (TAB. IV).

O aumento da espessura da dobra da pele (AEDP) médio na ocasião da leitura pela tuberculinização com PPD bovina foi 4,82 mm quando inoculada com seringa convencional e 4,96 quando inoculada com injetor a jato (TAB. V e VIII). O AEDP médio pela tuberculina PPD aviária foi 1,68 mm quando inoculada com a seringa convencional e 1,78 mm quando inoculada com injetor a jato (TAB. VI e IX). No teste comparativo, os aumen-

tos médios foram de 3,14 mm e 3,16 mm quando os reagentes foram inoculados com a seringa convencional e com injetor a jato respectivamente (TAB. VII e X).

4.2.2. Tuberculinização em 92 bovinos de rebanho livre de tuberculose

A tuberculinização com PPD bovina revelou 2 (2,17%) bovinos com reação positiva, 12 (13,05%) com reação suspeita e 78 (84,78%) sem reação, quando a tuberculina foi inoculada com seringa convencional e 2 (2,17%) bovinos com reação positiva, 14 (15,22%) com reação suspeita e 76 (82,61%) sem reação com injetor a jato.

A tuberculinização com PPD aviária revelou 10 (10,87%) bovinos com reação positiva, 14 (15,22%) com reação suspeita e 68 (73,91%) sem reação quando a tuberculina foi inoculada com seringa convencional, e 10 (10,87%) bovinos com reação positiva, 20 (21,74%) com reação suspeita e 62 (67,39%) sem reação com injetor a jato.

O teste comparativo simples com PPD bovina e aviária não acusou a presença de animais positivos e nem suspeitas por nenhum dos métodos de inoculação.

O AEDP médio de 92 animais, na ocasião da leitura, pela PPD bovina foi 1,08 mm quando inoculada com seringa convencional e 1,16 mm quando inoculada com injetor a jato. O AEDP médio pela PPD aviária foi 1,32 mm quando inoculada com seringa convencional e 1,16 mm com injetor a jato. No teste comparativo com PPD bovina e aviária os aumentos médios foram de 0,25 mm e 0,21 mm a favor da PPD aviária quando os reagentes foram inoculados com seringa convencional e com injetor a jato, respectivamente.

4.2.3. Formação de pápula, sangramento e perdas de tuberculina no local de inoculação

Em ambos os métodos de tuberculinização formaram-se

pápulas, nitidamente visíveis, do tamanho de lentilhas e facilmente palpáveis com a ponta do dedo, na pele dos animais.

O sangramento no local de inoculação ocorreu ocasionalmente pelos dois métodos de tuberculinização e foi ligeiramente maior quando os reagentes foram inoculados com injetor a jato.

As perdas de tuberculina no ato da inoculação foram insignificantes para ambos os métodos de tuberculinização. Essas perdas deram-se por refluxo quando os reagentes foram inoculados com a seringa convencional e por refluxo ou não penetração quando os reagentes foram inoculados com injetor a jato.

4.2.4. Sensibilidade dolorosa, presença de exsudato e necrose no local de inoculação

Na ocasião da leitura observou-se que a sensibilidade dolorosa, presença de exsudato e necrose ocorreram sob várias intensidades nos animais positivos para a tuberculose. Observou-se ainda, que tais reações foram semelhantes pela tuberculinização com a seringa convencional e pelo injetor a jato.

TABELA I - Difusão da tuberculina inoculada pela seringa convencional e pelo injetor a jato na pele dos bovinos, a julgar pela área corada com tinta nanquim

Animal	Difusão em profundidade (mm)		Difusão no sentido horizontal (mm)	
	Seringa convencional	Injetor a jato	Seringa convencional	Injetor a jato
1	4,0	4,0	7,0	9,0
2	4,0	4,0	13,0	13,0
3	4,0	4,0	8,0	10,0
4	4,0	4,0	8,0	10,0
5	5,0	5,0	10,0	10,0
6	4,0	5,0	10,0	10,0
7	4,0	5,0	12,0	12,0
8	5,0	4,0	10,0	10,0
9	4,0	4,0	14,0	13,0
10	4,0	4,0	7,0	7,0
\bar{x}	4,2	4,3	9,9	10,4

TABELA II - Tuberculinação com PPD bovina inoculada através da seringa convencional (SC) e do injetor a jato (IJ) em bovinos de rebanhos com tuberculose

Rebanho	Número de animais inoculados	P o s i t i v o s		S u s p e i t o s		N e g a t i v o s							
		(SC)	(IJ)	(SC)	(IJ)	(SC)	(IJ)						
A	25	7	28,00	8	32,00	16	64,00	16	64,00	2	8,00	1	4,00
B	46	29	63,05	31	67,40	16	34,78	14	30,43	1	2,17	1	2,17
C	53	16	30,19	16	30,19	24	45,28	24	45,28	13	24,53	13	24,53
D	80	61	76,25	65	81,25	17	21,25	13	16,25	2	2,50	2	2,50
E	102	55	53,92	58	56,86	29	28,43	32	31,37	18	17,65	12	11,77
Total	306	168	54,90	178	58,17	102	33,33	99	32,35	36	11,77	29	9,48

TABELA III - Tuberculinação com PPD aviária inoculada através da SC e do IJ em bovinos de rebanhos com tuberculose

Rebanho	Número de animais inoculados	P o s i t i v o s		S u s p e i t o s		N e g a t i v o s	
		(SC) %	(IJ) %	(SC) %	(IJ) %	(SC) %	(IJ) %
A	25	2 8,00	2 8,00	3 12,00	4 16,00	20 80,00	19 76,00
B	46	11 23,91	14 30,44	12 26,09	8 17,39	23 50,00	24 52,17
C	53	2 3,77	3 5,66	9 16,98	9 16,98	42 79,25	41 77,36
D	80	18 22,50	16 20,00	21 26,25	22 27,50	41 51,25	42 52,50
E	102	18 17,65	20 19,61	13 12,74	16 15,68	71 69,61	66 64,71
Total	306	51 16,67	55 17,97	58 18,95	59 19,28	197 64,38	192 62,75

TABELA IV - Tuberculinação comparativa simples com PPDs bovina e aviária realizada através da SC e do IJ em bovinos de rebanhos com tuberculose

Rebanho	Número de animais inoculados	P o s i t i v o s		S u s p e i t o s		N e g a t i v o s	
		(SC)	(IJ)	(SC)	(IJ)	(SC)	(IJ)
A	25	6	7	10	9	9	9
B	46	20	19	12	13	14	14
C	53	14	12	11	10	28	31
D	80	52	55	17	14	11	11
E	102	42	44	22	22	38	36
Total	306	134	137	72	68	100	101

TABELA V - Aumento da espessura da dobra da pele (AEDP) médio obtido com a PPD bovina inoculada com SC e com IJ em bovinos de rebanhos com tuberculose

Rebanho	Número de animais inoculados	AEDP médio (mm)	
		(SC)	(IJ)
A	25	3,79	3,91
B	46	4,92	5,27
C	53	3,51	3,49
D	80	6,35	6,43
E	102	4,52	4,64
Total	306	4,82	4,94

TABELA VI - AEDP médio obtido com PPD aviária inoculada com SC e com IJ em bovinos de rebanhos com tuberculose

Rebanho	Número de animais inoculados	AEDP médio (mm)	
		(SC)	(IJ)
A	25	1,38	1,39
B	46	1,92	2,15
C	53	1,25	1,35
D	80	2,00	2,01
E	102	1,63	1,75
Total	306	1,68	1,78

TABELA VII - AEDP médio obtido pela tuberculinização comparativa simples com PPDs bovina e aviária realizada com (SC) e (IJ) em bovinos de rebanhos com tuberculose

Rebanho	Número de animais inoculados	AEDP médio (mra)	
		(SC)	(IJ)
A	25	2,41	2,52
B	46	3,00	3,12
C	53	2,26	2,14
D	80	4,35	4,42
E	102	2,89	2,89
Total	306	3,14	3,16

TABELA VIII - AEDP médio obtido com PPD bovina inoculada com SC e com IJ em bovinos de rebanhos com tuberculose, segundo a intensidade da reação

Intensidade da reação (mm)	(SC)		(IJ)	
	Número de animais	AEDP médio (mm)	Número de animais	AEDP médio (mm)
0,0 - 1,9	36	1,25	29	1,13
2,0 - 3,9	102	2,96	99	2,98
4,0 ou mais	168	6,72	178	6,66
Total	306	4,82	306	4,94

TABELA IX - AEDP pela PPD aviária inoculada com SC e com IJ em bovinos de rebanhos com tuberculose, segundo a intensidade da reação

Intensidade da reação (mm)	(SC)		(IJ)	
	Número de animais	AEDP médio (mm)	Número de animais	AEDP médio (mm)
0,0 - 1,9	197	0,96	192	1,05
2,0 - 3,9	58	2,28	59	2,29
4,0 ou mais	51	3,76	55	3,78
Total	306	1,68	306	1,78

TABELA X - AEDP médio pela tuberculinização comparativa simples com PPDs bovina e aviária realizadas com SC e com IJ em bovinos de rebanhos com tuberculose, segundo a intensidade de reação

Intensidade da reação (mm)	(SC)		(IJ)	
	Número de animais	AEDP médio (mm)	Número de animais	AEDP médio (mm)
0,0 - 1,9	99	0,95	98	0,99
2,0 - 2,9	73	2,39	71	2,41
3,0 ou mais	134	5,17	137	5,11
Total	306	3,14	306	3,16

5. DISCUSSÃO

O método de tuberculinizar bovinos com inoculadores de tuberculina sem agulha foi testado por vários autores, em três países. KRANTZ (1959), na França, idealizou o "Dermo-jet" e CHOBERT et alii (1960) testaram o método de inocular tuberculina por pressão, pela primeira vez na medicina veterinária, com bons resultados. KRÄFT (1962), na Alemanha, não aprovou o método. Entretanto, SVOZTCHIC et alii (1973); NOVAK et alii (1974) e DONTCHENKO & MAIER (1979), na Rússia, consideram o método eficiente e prático.

No presente trabalho pode-se observar que os resultados apresentaram-se aproximados aos obtidos pelos pesquisadores da França e Rússia, mas diferiram daqueles obtidos por KRÄFT (1962), na Alemanha. A divergência de tais resultados poderia estar relacionada à pressão do aparelho, uma vez que no aparelho utilizado para a presente pesquisa, com pressão equivalente a 90 kgf, conseguiram-se bons resultados. Outro fator que poderia influenciar os resultados seria o orifício de ejeção do reagente que se mostrou mais eficiente quando foi usado um cristal de safira com orifício medindo 0,006 polegadas de diâmetro, o qual permitiu menor refluxo do reagente e menor sangramento no local de inoculação.

Ao comparar a PPD bovina inoculada pela seringa convencional e pelo injetor a jato em bovinos de rebanhos com e

sem tuberculose, verificou-se que houve concordância entre as reações positivas, suspeitas e negativas pelos dois métodos em questão ($P < 0,01$), e o AEDP médio, embora ligeiramente maior pela tuberculinização com injetor a jato não foi significativo (TAB. II e V). Para a PPD aviária houve concordância entre as reações positivas, suspeitas e negativas pelas duas técnicas envolvidas ($P < 0,01$), mas o AEDP médio foi significativamente maior ($P < 0,05$) pela injeção por pressão (TAB. III e VI). Este resultado, entretanto, não compromete o resultado final do teste.

No teste comparativo com PPD bovina e aviária verificou-se que houve concordância entre as reações positivas, suspeitas e negativas pelas duas técnicas de inoculação envolvidas ($P < 0,01$), e a diferença entre a intensidade da reação, embora tenha sido ligeiramente maior pela tuberculinização com injetor a jato, não foi significativa. Esses resultados estão de acordo com CHOBERT (1960), SVOZTCHICK et alii (1973) e NOVAK et alii (1974).

Em bovinos sem tuberculose, verificou-se que o número de animais negativos foi igual para ambos os métodos e que não houve reagentes suspeitos e nem positivos; já o aumento médio da espessura da dobra da pele foi ligeiramente maior para a tuberculinização com injetor a jato, porém não significativo, o que concorda com SVOZTCHICK et alii (1973) e NOVAK et alii (1974).

Nos bovinos com tuberculose, a sensibilidade dolorosa, presença de necrose e reação ganglionar ocorreram com maior intensidade no local onde a PPD bovina foi inoculada. Essas reações foram semelhantes para ambos os métodos de tuberculinização e concordam com os resultados obtidos por SVOZTCHICK et alii (1973) e discordam de KRÄFT (1962) que encontrou sensibilidade dolorosa 28% menor para a tuberculinização com injetor a jato.

As pápulas formadas no local de inoculação foram iguais em tamanho e forma para ambos os métodos de tuberculinização. Esses resultados estão de acordo com NOVAK et alii (1974).

e discordam de KRÄFT (1962) que registrou formação de pápula em apenas 115 dos 160 bovinos tuberculinizados. A não formação de pápula pode ocorrer por falhas na aplicação. A aplicação com a seringa convencional pode falhar, quando o reagente é inoculado dentro de vasos sanguíneos ou quando a agulha ultrapassa a derme. Já a aplicação com injetor a jato pode falhar pela não penetração da tuberculina, devido ao mau posicionamento do aparelho no ato da inoculação ou ainda em animais que apresentam pele fibrosa por lesões, dificultando a penetração do reagente. Em qualquer dos casos deve-se repetir a operação.

O sangramento no local de inoculação ocorreu em ambos os métodos de inoculação e foi ligeiramente maior pelo injetor a jato. Esse sangramento ocorre quando a agulha perfura pequenos vasos da derme ou quando a inoculação por pressão rompe esses vasos. Esses achados não influenciaram os resultados, uma vez que não houve diferenças significativas entre a tuberculinização com a seringa convencional e com o injetor a jato, em bovinos positivos e negativos para a tuberculose.

As perdas de tuberculina por refluxo no local da inoculação são muito pequenas e ocorreram ocasionalmente para ambos os métodos de tuberculinização. A inoculação da tuberculina com o corante mostrou como o alérgeno se difunde pelos tecidos dificultando o refluxo. Na inoculação pela agulha, teoricamente pode refluir pequena parte do líquido pelo orifício deixado pela agulha, e na inoculação por pressão observou-se que ao ponto de penetração do jato, os bordos são úmidos devido a pequena fração da tuberculina que não penetrou. Essas perdas foram insignificantes, pois não influenciaram os resultados obtidos pelos métodos em questão. Esses resultados, no entanto, discordam de KRÄFT (1962), que considera o refluxo como principal fator responsável pelas diferenças encontradas.

Os estudos da produtividade de trabalho desenvolvidos por SVOZTCHICK et alii (1973) e NOVAK et alii (1974) mostraram que houve economia de tempo e pessoal quando a tuberculinização foi realizada com injetor a jato. Este aspecto é indiscu

tível, mormente quando se trabalha com bovinos mestiços que relutam mais intensamente às picadas de agulha, dificultando a operação com a seringa convencional, embora tenha sido avaliado apenas por estimativa.

O princípio de tuberculinizar bovinos com inoculadores sem agulha é válido, uma vez que não houve diferenças significativas entre os resultados obtidos pelo injetor "Vitajet" e pela seringa convencional. Entretanto o uso do aparelho "Vitajet" apresenta limitações de ordem prática para uso na rotina veterinária. O aparelho apresenta câmara com capacidade para armazenar apenas uma dose de tuberculina, e a recarga do injetor aumenta o intervalo de tempo entre as aplicações. Outro aspecto que precisa ser avaliado, é quanto ao surgimento de problemas técnicos descritos por DONTCHENKO & MAIER (1979), como fator limitante na exploração desses aparelhos na Rússia. Esses autores argumentam ainda que a exploração de tais aparelhos poderia ser aumentada com a formação de oficinas especiais para reparos e fornecimento de peças de reposição ao mercado. Como o injetor a jato é fabricado em nosso meio, o problema de conserto e reposição de peça seria relativamente fácil.

6. CONCLUSÃO

1) A técnica de tuberculinizar bovinos com injetor a jato é eficiente e pode ser utilizada na rotina veterinária.

2) Para que ofereça melhor produtividade e assim se torne mais econômico o trabalho, o injetor deve possuir câmara capaz de armazenar várias doses de tuberculina.

3) O aumento da pressão ejetora para 90 kgf melhorou a eficiência da técnica.

4) A modificação introduzida no bico ejetor reduziu o refluxo da tuberculina e diminuiu o sangramento no local da inoculação.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BENCHIMOL, D. & ARDUINO, F. Um injetor a jato para insulina de fabricação nacional. *Separata de Arq. Bras. Med.*, 58(1):1-4, 1984.
2. CENTRO PANAMERICANO DE ZONÓSES, Buenos Aires. *Preparacion y estandarizacion de tuberculina PPD*. Buenos Aires, 1980. 44p. (Nota Técnica, 17; Rev. 1).
3. CHOBERT, A. *Un injeteur sans aiguille - ses application em Médecine Vétérinaire*. Alfort, 1960. (Thèse vét.) apud KRÄFT, H.-A. *Prüfung des Dermo-Jet-Instrumentes (AKra-Pau, Frankreich) auf seine Brauchbarkeit für die intrakutane Tuberculinprobe beim Rind*. Hannover, Klinik für Rinderkrankheiten (in Richard - Götze - Institut) der Tierärztlichen Hochschule Hannover, 1962. 29p. (Doctor medicinae veterinariae).
4. CHOBERT, A.; BRION; FONTAINE. Injections intradermiques e transcutanées sans aiguille-presentation d'un appareil. *Bull. Acad. Vet. France*, 33:507-12, 1960.
5. CORNER, L.A. & PEARSON, C.W. Pathogenicity for cattle of atypical mycobacteria isolated from feral pigs and cattle and the correlation of lesions with tuberculin sensitivity. *Aust. Vet. J.*, Brunswick, 54(6):280-6, 1978.

6. DONTCHENKO, A.A. & MAIER, V.V. Biezygolnye Iniektory pri tubierkulinizatsia skota [Injetores sem agulha para tuberculização de rebanhos]. *Veterinariya*, Moscow, (3):16, 1979.
7. FRANCIS, J.; CHOI, C.L.; FROST, A.J. The diagnosis of tuberculosis in cattle with special reference to bovine PPD Tuberculin. *Aust. Vet. J.*, Brunswick, 49(5):246-51, 1973.
8. FRANCIS, J.; SEILER, R.J.; WILKIE, I.W.; O'R, D.; LUMSDEN, M.J.; FROST, A.J. The sensitivity and specificity of various tuberculin tests using bovine PPD an other tuberculins. *Vet. Rec.*, London, 103(19):420-5, 1978.
9. HUITEMA, H. Métodos de producion de tuberculina. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE TUBERCULOSIS BOVINA PARA LAS AMÉRICAS, i., Santiago, 1970. Washington, Organizacion Mundial de la Salud, 1972. p.175-9.
10. HUITEMA, H. Prueba de la tuberculina em bovinos y otros animales. In: SEMINÁRIO INTERNATIONAL SOBRE TUBERCULOSIS BOVINA PARA LAS AMÉRICAS, 1., Santiago, 1970. Washington, Organizacion Mundial de la Salud, 1972. p.185-203.
11. KRÄFT, H.-A. *Prufung des Dermo-Jet-Instruments (Akra-Pau, Frankreich) auf seine Brauchbarkeit für the intrakutane Tuberculinprobe beim Rind.* Hannover, Klinik für Rinder-Krankheiten (in Richard-Götze-Institut) der Tierärztlichen Hochschule Hannover, 1962. 29p. (Doctor Medicine Veterinariae).
12. KRANTZ, A. L'injecteur sans aiguille "Dermo-Jet". *Presse Med.*, Paris, 48:1807-13, 1959.
13. LANGENEGGER, J.; LANGENEGGER, C.H.; MOTA, P.M.P.C.; LEITE, R.C. Reações inespecíficas no diagnóstico da tuberculose bovina. *Pesq. Vet. Bras.*, Rio de Janeiro, 4(1):145-9, 1981.
14. LEPPER, A.W.D.; NEWTON-TABRETT, D.A.; CORNER, L.A.; CARPENTER, M.T.; SCANLAN, W.A.; WILLIAMS, O.J.; HELWIG, D. M. The use of bovine PPD tuberculin the single caudal fold test

- to detect tuberculosis in beef cattle. *Aust. Vet. J.*; Brunswick, 53(5):208-13, 1977.
15. LESLIE, J.W. Prueba tuberculina em bovinos. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE TUBERCULOSIS BOVINA PARA LAS AMÉRICAS, 1., Santiago, 1970. Washington, Organizacion Mundial de la Salud, 1972. p.59-61.
 16. LESLIE, W.F.; HERBERT, C.N.; BURN, K.J.; MacCLANCY, B.N.; DONNELLY, N.J.C. Comparison of the specificity of human and bovine tuberculin PPD for testing cattle. *Vet. Rec.*, London, 96(15):332-4, 1975.
 17. NOVAK, D.D.; DUCHENIN, N.V.; SMOLYAROV, B.V.; ROGATCHEV, V. T. Tubierkulinizatsia Krupnovo rogatovo skota biezygolnym iniektorom. [Tuberculinização de gado bovino com inoculador sem agulha]. *Veterinariya*, Moscow, (5):58-60, 1974.
 18. ROSWRM, J.D.; KANTOR, J.N.; MARCHEVSKY, N.; SPINELLI, R.; SPATH, E. Sensibilidad a las pruebas tuberculinas em ganado bovino infectado com *M. bovis* em Argentina. *Bol. Of. Sanit. Panam.*, Washington, 86(5):420-34, 1979.
 19. SNEDECOR, G.W. & COCHRAN, W.G. *Statistical methods*. 6. ed. Ames, The Iowa State University Press, 1967. 580p.
 20. ZVOZTCHIC, V.G.; SEGAL, L.S.; BOGDAN, V. L. Biezygolnaia tubierkulinizatsia krupnovo rogatovo skota. [Uso de injetor sem agulhas para tuberculinização de bovinos]. *Veterinariya*, Moscow, (7):44-6, 1973.