

ISSN 0100-736X

Volume 13 Números 1/2
Jan/Jun 1993

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Brazilian Journal of Veterinary Research



Revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, revista bilingüe trimestral editada pelo Colégio Brasileiro de Patologia Animal, publica trabalhos originais de pesquisa no campo da patologia veterinária no seu sentido amplo, principalmente sobre doenças de importância econômica. Os autores devem fazer com que seus trabalhos, quando a ela destinados, sejam datilografados de acordo com as instruções publicadas na própria revista.

Editorial Policy

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

Conselho Editorial (Editorial Board)



Editor: Jürgen Döbereiner. **Editores Adjuntos:** Severo Sales de Barros, Osmane Hipólito, Jerome Langenegger, Hugo Barboza de Rezende, Adair Mafuz Saliba, Jefferson Andrade dos Santos, Carlos Hubinger Tokarnia.

Assessoria Científica (Advisory Board)

Carlos Cypriano P. Artech, Eduardo H. Birgel, Hans Blobel, Pedro Gonçalves Cabral, A.F. Pestana de Castro, Milton de Souza Dayrell, Gerrit Dirksen, Laerte Grisi, Eberhard Grunert, Jorge Almeida Guimarães, Gerhard Habermehl, Ernesto Hofer, Michael R. Honer, Mario Mariano, Anton Mayr, Hans Merkt, Gonzalo E. Moya, Ronaldo Reis, Carlos H. Romero, Ivan B. Machado Sampaio, Hermann G. Schatzmayr, L.-Cl. Schulz.

A correspondência referente à publicação de trabalhos e a outros assuntos técnico-científicos editoriais deve ser endereçada ao (All editorial communications, including typescripts, should be addressed to) Dr. Jürgen Döbereiner, Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970 (Brasil); Tel. (021) 682-1082; Telex 21-32723 EBPA BR; Fax (021) 682-1230.

A revista é editada dentro do

Programa de Apoio a Publicações Científicas		
SCT/PR	 CNPq	 FINEP

em colaboração com o
Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ

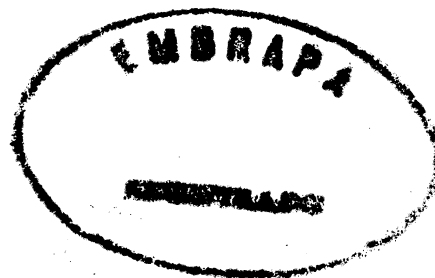


Figura da capa: Um caso extremo de abaulamento bilateral da face de um bezerro com “cara inchada” em consequência de periodontite purulenta crônica. Notam-se sinais de depauperamento e diarreia. Mun. Campos Novos Paulista, SP. (Dutra et al., p. 1)

Cover illustration: An extreme case of “Cara inchada” in a calf due to chronic purulent periodontitis. Bad condition and signs of diarrhea can be noted. County of Campos Novos Paulista, São Paulo, Brazil. (Dutra et al., p. 1)

A revista Pesquisa Veterinária Brasileira está incluída em Current Contents/Agriculture, Biology & Environmental Sciences.

This journal is listed in Current Contents/Agriculture, Biology & Environmental Sciences.

Pesquisa veterinária brasileira = Brazilian journal of veterinary
research - v. 1 - n. 1 - 1981 -

Rio de Janeiro : Colégio Brasileiro de Patologia Animal,
1981 -

v. trim. ISSN 0100-736X

I. Pesquisa veterinária - Periódicos - Brasil. I. Colégio
Brasileiro de Patologia Animal, ed. II. Título: Brazilian journal
of veterinary research.

CDD 636.089

CDU 619:616(81)(05)



PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

— uma revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal
A Brazilian Journal of Veterinary Research published by the Brazilian College of Animal Pathology

Volume 13

Janeiro/Junho 1993

Números 1/2

SUMÁRIO

Surtos de periodontite em bezerros (“cara inchada”) associados ao manejo do solo. I.S. Dutra, T. Matsumoto & J. Döbereiner	1-4
Intoxicação experimental por Baccharis megapotamica var. megapotamica e var. weirii (Compositae) em ovinos. A.G. Armién, P.V. Peixoto & C.H. Tokarnia	5-20
Enzootic calcinosis in sheep. Experimental reproduction with Nierembergia veitchii (Solanaceae). [Calcinose enzoótica em ovinos. Reprodução experimental com Nierembergia veitchii (Solanaceae).] F.R. Correa, M.C. Méndez, A.L. Schild & C.A. Petiz	21-24
Intoxicação espontânea por Amaranthus spinosus (Amaranthaceae) em bovinos. R.A. Lemos, C.S.L. Barros, M.S. Salles, S.S. Barros & P.V. Peixoto	25-34
Intoxicação experimental por Pseudocalymma elegans (Bignoniaceae) em caprinos. C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto & J. Döbereiner	35-39
Comparação antigênica de três amostras de vírus da influenza eqüina A/equi 2, isoladas no Brasil. R.G. Cunha & M.C.C. Pagano	41-44

CONTENTS

Outbreaks of periodontitis in calves (“Cara inchada”) related to soil cultivation. I.S. Dutra, T. Matsumoto & J. Döbereiner	1-4
Experimental poisoning of sheep by Baccharis megapotamica var. megapotamica e var. weirii (Compositae). A.G. Armién, P.V. Peixoto & C.H. Tokarnia	5-20
Enzootic calcinosis in sheep. Experimental reproduction with Nierembergia veitchii (Solanaceae). F.R. Correa, M.C. Méndez, A.L. Schild & C.A. Petiz	21-24
Naturally occurring Amaranthus spinosus (Amaranthaceae) poisoning in cattle. R.A. Lemos, C.S.L. Barros, M.S. Salles, S.S. Barros & P.V. Peixoto	25-34
Experimental poisoning of goats by Pseudocalymma elegans (Bignoniaceae). C.H. Tokarnia, P.V. Peixoto & J. Döbereiner	35-39
Antigenic comparison of three strains of equine influenza A/equi 2 virus isolated in Brazil. R.G. Cunha & M.C.C. Pagano	41-44

EDITORIAL

Nos países em desenvolvimento, em cujas economias a pecuária representa importante parcela, é de grande interesse dar maior atenção ao treinamento dirigido para os veterinários "do campo" e suas equipes de apoio sobre problemas sanitários na área de sua atuação onde ocorrem doenças que interferem na produtividade dos rebanhos.

Não é suficiente dispor de cursos superiores de medicina veterinária, de institutos de pesquisa e de laboratórios de diagnóstico. A experiência mostra que na maioria das Escolas de Veterinária destes países, o ensino é bastante teórico; nas instituições de pesquisa profissionais se enclaustram nas salas atrás de um computador e os laboratórios de diagnóstico processam friamente o material recebido.

Nestas circunstâncias, além de uma coordenação técnica que integre e direcione as atividades destas instituições, necessita-se preparar melhor o elemento catalisador que é o veterinário do campo e os seus auxiliares. Este profissional está diretamente convivendo com os problemas sanitários e muitas vezes, por falta de treinamento, não os reconhece. Outras vezes, também por deficiência de treinamento, não dispõe de técnicas ou desconhece o recurso laboratorial e não recorre ao mesmo. Pouco a pouco este profissional, tão importante no atendimento dos problemas sanitários, no interior, se torna apático ou cria teorias errôneas e com elas convive, sem resolver o problema sanitário que prejudica o produtor.

Diante desta situação, torna-se evidente que sempre *há necessidade de aprimorar as atividades de treinamento do veterinário do campo*. As autoridades sanitárias devem conscientizar-se disso e idealizar, estimular e apoiar programas de treinamento e atualização de conhecimento sobre problemas de Saúde Animal, a serem administrados nas regiões ou em locais onde resultam em maior proveito.

Com este treinamento prático, os veterinários do campo criam ligação com os profissionais das mais variadas instituições para intercâmbio de interesse mútuo, levando os resultados da pesquisa para as fazendas e trazendo informações que podem constituir-se em temas de pesquisa.

JÜRGEN DÖBEREINER
Editor

X Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Belo Horizonte, 5-9.7.1993
(Secretaria: CBRA, Av. Raja Gabaglia 245, Belo Horizonte, MG 30380-090; Tel. (031) 335-9750,
Fax (031) 275-2257)

45ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, Recife, 11-16.7.1993
(Informações: SBPC, R. Costa Carvalho 222, São Paulo, SP 05429-000; Tel. (011) 211-5008, 211-0933,
Fax (011) 212-1376)

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Os trabalhos, em original e uma cópia, escritos em português ou inglês, devem ser enviados ao Dr. Jürgen Döbereiner, Revista PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, Colégio Brasileiro de Patologia Animal, 23851 Seropédica, Rio de Janeiro. Devem constituir-se de resultados ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista.

Apesar de não serem aceitas comunicações ("Short communications") sob forma de "Notas Prévias", não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve porém conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, o Corpo Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias.

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em TÍTULO, ABSTRACT, SINOPSE, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (ou combinações destes três últimos), AGRADECIMENTOS e REFERÊNCIAS:

a) o *Título* do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho;

b) *Abstract*, um resumo em inglês, deverá ser apresentado com os elementos constituintes observados nos artigos em português, publicados no último número da revista, ficando em branco apenas a paginação, e, no final, terá indicação dos "index terms";

c) a *Sinopse* deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, dando os mais importantes resultados e conclusões; será seguida da indicação dos termos de indexação; nos trabalhos em inglês, Sinopse e Abstract trocam de posição e de constituição (veja-se como exemplo sempre o último número da revista);

d) a *Introdução* deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho;

e) em *Material e Métodos* devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores;

f) em *Resultados* deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos; quadros devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições; é conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos, ao invés de apresentá-los em quadros extensos;

g) na *Discussão* os resultados devem ser discutidos diante da literatura; não convém mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

h) as *Conclusões* devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho;

i) *Agradecimentos* devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

j) a lista de *Referências*, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando os nomes de todos os autores, o título de cada publicação e, por extenso ou abreviado, o nome da revista ou obra, usando as instruções de "Normalização da Documentação no Brasil" (IBICT-ABNT), "Style Manual for Biological Journals" (American Institute for Biological Sciences) e/ou "Bibliographic Guide for Editors and Authors" (American Chemical Society, Washington, D.C.).

2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as normas abaixo:

a) os trabalhos devem ser datilografados em uma só face do papel, em espaço duplo e com margens de, no mínimo, 2,5 cm; o texto será escrito corriqueiramente; quadros serão feitos em folhas separadas, usando-se papel duplo ofício, se necessário, e anexados ao final do trabalho; as folhas, ordenadas em texto, legendas, quadros e figuras, serão numeradas seguidamente;

b) a redação dos trabalhos deve ser a mais concisa possível, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os

sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados um pouco acima da linha de escrita, após a palavra ou frase que motivou a nota; essa numeração será contínua; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada; todos os quadros e todas as figuras serão mencionados no texto; estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes; Sinopse e Abstract serão escritos corriqueiramente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas;

c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional do(s) autor(es);

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema "autor e ano"; trabalhos de dois autores serão citados pelos nomes de ambos, e de três ou mais, pelo nome do primeiro seguido de "et al.", mais o ano; se dois trabalhos não se distinguem por esses elementos, a diferenciação será feita pelo acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos; todos os trabalhos citados terão suas referências completas incluídas na lista própria (Referências), inclusive os que tenham sido consultados indiretamente; no texto não se fará menção do trabalho que tenha servido somente como fonte; este esclarecimento será acrescentado apenas ao final da respectiva referência, na forma: "(Citado por Fulano 19..)"; a referência do trabalho que tenha servido de fonte será incluída na lista uma só vez; a menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita, de preferência, no próprio texto, colocada em parênteses, com citação de nome(s) ou autor(es); nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exemplo: (Flores & Houssay 1917, Roberts 1963a,b Perreau et al. 1968, Hanson 1971);

f) a lista das referências deverá ser apresentada com o mínimo de pontuação e isenta do uso de caixa alta, sublinhando-se apenas os nomes científicos, e sempre em conformidade com o padrão adotado no último número da revista, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. As *figuras* (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) deverão ser apresentadas em tamanho maior (cerca de 150%) do que aquele em que devam ser impressas, com todas as letras ou sinais bem proporcionados para assegurar a nitidez após a redução para o tamanho desejado; parte alguma da figura será datilografada; a chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura; desenhos deverão ser feitos com tinta preta em papel branco liso ou papel vegetal, vedado o uso de papel milimetrado; cada figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte superior da figura; fotografias deverão ser apresentadas em branco e preto, em papel brilhante, e sem montagem, ou em diapositivos ("slides") coloridos; somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras será em cores; para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope.

4. As legendas explicativas das figuras conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis e serão datilografadas em folha separada que se iniciará com o título do trabalho.

5. Os quadros deverão ser explicativos por si mesmos; cada um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para grupamento de colunas; não há traços verticais; os sinais de chamada serão alfabéticos, começando de *a* em cada quadro, e as notas serão lançadas logo abaixo do quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço de 12 batidas, à esquerda.

6. Aos autores de cada trabalho publicado serão fornecidas 50 separatas.

SURTOS DE PERIODONTITE EM BEZERROS ("CARA INCHADA") ASSOCIADOS AO MANEJO DO SOLO¹

IVERALDO S. DUTRA², TAKASHI MATSUMOTO³ e JÜRGEN DÖBEREINER⁴

ABSTRACT.- Dutra I.S., Matsumoto T. & Döbereiner J. 1992 [Outbreaks of periodontitis in calves ("Cara inchada") related to soil cultivation.] Surtos de periodontite em bezerros ("cara inchada") associados ao manejo do solo. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 13(1/2):1-4. Depto Med. Veterinária, Unesp Araçatuba, 16015-100 Araçatuba, SP, Brazil.

"Cara inchada" of cattle (CI) is a periodontitis which occurs in young animals during tooth eruption and is related to tree clearance and sowing pasture grasses in certain areas of Central Brazil once covered by forest or savanna vegetation. The findings of outbreaks of CI on two farms in the State of São Paulo are reported. In these outbreaks the calves showed severe emaciation, diarrhea, various periodontal lesions, halitosis and loss of premolar teeth of the upper jaw. On one farm the disease occurred after feeding sugar cane harvested from a newly cultivated area, in which the prevalence of periodontal lesions was 61.5% and mortality 22.1%. On the other farm, the outbreak occurred after cattle grazed on recently improved pastures. In the dry season the animals were also fed supplements of forage and silage grown on the same farm. The prevalence of CI in the latter was 51.9% and mortality 3.6%. It is concluded that there is a relationship between new outbreaks of periodontitis and soil and pasture improvement, i.e. ploughing, harrowing, application of lime and fertilizers.

INDEX TERMS: Periodontal disease, periodontitis, "Cara inchada", cattle, calves.

SINOPSE.- "Cara inchada" dos bovinos (CI) é uma periodontite que os acomete na fase de dentição e está associada à formação de pastagens em determinadas áreas antes cobertas de mata ou com vegetação de cerrado no Brasil Central. Foram registrados dois surtos da doença em propriedades situadas no Estado de São Paulo, após a reforma de áreas anteriormente positivas para CI, e utilização das forrageiras cultivadas na alimentação animal. Nas duas propriedades surtos da doença haviam sido observados há mais de 10 anos atrás, após a formação inicial das pastagens em área de cerrado; no entanto, nos últimos anos não havia mais registros da ocorrência da periodontite. No ressurgimento da doença os bezerros apresentaram emagrecimento acentuado, diarréia, lesões peridentárias de diferentes intensidades, odor fétido bucal e perda dos dentes premolares decíduos maxilares. Numa das propriedades a doença ocorreu após a utilização de cana-de-açúcar, cultivada no ano anterior, na alimentação dos bezerros. A prevalência de animais com lesões peridentárias foi de 61,5%, com coeficiente de mortalidade de 22,1%. Na outra propriedade o surto ocorreu após a reforma dos pastos e das áreas destinadas à capineira e silagem de milho. A prevalência da doença foi de 51,9%, com mortalidade de 3,6%. Numa análise retrospectiva pode-se associar o ressurgimento da periodontite em bezerros

nas duas propriedades com a reforma das áreas através de aragem, gradeação, calagem e adubação do solo.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Doença peridentária, periodontite, "cara inchada", bovinos, bezerros.

INTRODUÇÃO

A "cara inchada" dos bovinos (CI) é uma periodontite de animais jovens, quando mantidos em determinadas pastagens recém-formadas no Brasil Central (Döbereiner et al. 1974). As evidências indicam que primariamente bactérias anaeróbias não esporuladas estão associadas à sua etiopatogenia, através da produção de enzimas e toxinas com potencial de destruição dos tecidos de sustentação dos dentes (Blobel et al. 1984, Dutra et al. 1986, Botteon 1991). Inicialmente, surtos da doença foram observados em pastos de *Panicum maximum* formados após a derrubada de matas; mais recentemente, a doença tem sido observada também em áreas de cerrado cultivadas com outras gramíneas, principalmente *Brachiaria decumbens* (Döbereiner 1990). Animais com CI transferidos para área de pastagem natural de cerrado, isto é para região indene, recuperam-se satisfatoriamente do processo havendo uma epiteliação das lesões peridentárias e acentuada melhoria do estado geral. Com o decorrer dos anos há uma tendência natural de diminuição significativa da prevalência da doença, na dependência do tipo de solo (Döbereiner et al. 1975, Döbereiner 1990).

¹ Aceito para publicação em 28 de julho de 1992.

² Depto Med. Veterinária, Universidade Estadual Paulista - Unesp, Rua José Bonifácio 1193, Cx. Postal 533, 16015-100 Araçatuba, SP; bolsista do CNPq (305967/85-1).

³ Cooperativa de Laticínios de São Carlos, São Carlos, SP.

⁴ Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970; bolsista do CNPq (305294/88-1).

O presente trabalho relata a ocorrência de surtos de “cara inchada” em bezerros de duas propriedades rurais situadas no Estado de São Paulo, associados ao manejo do solo e utilização das forrageiras na alimentação animal.

MATERIAL E MÉTODOS

Histórico do problema nas duas propriedades

Fazenda S.F., município de São Carlos, SP. O primeiro surto de “cara inchada” (CI) ocorreu nesta fazenda com a formação da pastagem iniciada em 1979 com a derrubada da vegetação nativa do cerrado e plantio direto da gramínea *Brachiaria decumbens*. Após a introdução dos animais, apareceu a CI, com elevados índices de mortalidade de bezerros nos anos seguintes, segundo histórico obtido na propriedade. Com o decorrer do tempo houve uma diminuição do número de casos, não quantificados pela inexistência de anotações, chegando ao desaparecimento do problema alguns anos mais tarde. Em junho de 1990, no período da seca, foi iniciada a suplementação alimentar dos bezerros desmamados com cana-de-açúcar. Esta cana havia sido cultivada em área originalmente de cerrado de 7,5 ha, preparada no ano anterior. Na ocasião, o pasto de *B. decumbens* foi arado, gradeado e calcareado com 2,5 ton/ha e a cana plantada dentro dos critérios convencionais. Nos últimos 10 anos, esta foi a única área reformada da fazenda e destinada à bovinocultura. Por ocasião da primeira visita, em 25.8.1990, fomos alertados sobre a mortalidade dos bezerros e casos de CI; a propriedade contava com 1137 ha de pasto de *B. decumbens*, 2437 cabeças de gado da raça Nelore ou mestiços, sendo aproximadamente 800 vacas, 450 novilhas, 450 bois, 50 touros e 687 bezerros de diferentes idades. Os animais eram mantidos em 20 pastos e a suplementação mineral realizada com mistura adquirida no mercado, fornecida “ad libitum”.

Fazenda C., município de Barretos, SP. Os pastos da propriedade haviam sido formados, em áreas originalmente de cerrado, com *B. decumbens* e *B. humidicola* há cerca de 15 anos, quando a CI foi observada nos bezerros. O atual proprietário adquiriu a fazenda de 170 ha no ano de 1988 e introduziu, concomitantemente, animais de alto valor zootécnico da raça Nelore Mocha. Em janeiro de 1990 iniciou a reforma das pastagens existentes em toda a extensão da fazenda. Toda a área foi gradeada, sendo este processo precedido pela calagem. Foram aplicadas 2 ton/ha de calcário em janeiro e 3 ton/ha 6 a 8 meses depois. Em área utilizada para plantio de milho e capineira de Napier foram empregadas 3 ton/ha em janeiro e 3 ton/ha 3 meses após. Em toda a extensão da propriedade foram distribuídos 600 kg de adubo na formulação 0-4-20 (NPK). Do manejo dos animais constava a vermifugação periódica e suplementação mineral com mistura

comercial fornecida “ad libitum”. Durante o ano de 1990, os animais foram mantidos em regime de pastejo e passaram a receber, a partir de agosto, silagem de milho e capim Napier picado. O plantel era constituído de 120 vacas registradas, 40 novilhas, 79 bezerros, 5 touros e 10 vacas de leite. Segundo o proprietário, a partir de outubro os bezerros apresentaram um quadro de emagrecimento progressivo e acentuado, acompanhado de diarreia e abaulamento facial. Todas as tentativas no sentido de reverter o processo foram, no entanto, sem sucesso, e 3 animais morreram no início de dezembro. Foi realizada necropsia em um bezerro de 8 meses que apresentava lesões peridentárias bilaterais acentuadas ao nível dos segundo e terceiro premolares decíduos maxilares (Pd₃-Pd₄ max.).

Exame clínico

Nas duas propriedades, por ocasião da primeira visita, foram realizados exames clínicos geral e da boca de todos os animais com idade de até 18 meses. Os dados relacionados ao estado de nutrição dos animais, ao aspecto dos pelos e à presença de “cauda suja” (sinal de diarreia) foram anotados em formulário próprio. Os bezerros foram contidos em tronco e examinados individualmente. Para o exame clínico da cavidade bucal dos animais foram utilizados abre-bocas e lanterna de mão. Foram observados o estado geral da gengiva marginal lingual maxilar, presença de bolsas peridentárias, odor fétido bucal, ausência de dentes e abaulamento facial. Esses critérios são descritos por Döbereiner et al. (1974) e Rosa et al. (1985) e constituem-se nos referenciais da ocorrência e intensidade da doença peridentária em bovinos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O esclarecimento da etiologia da “cara inchada” dos bovinos (CI) ainda se constitui num desafio à pesquisa. A sua epizootologia, assim como os aspectos clínico-patológicos e bacteriológicos evidenciam uma enfermidade infecciosa multifatorial. A CI, inicialmente foi observada em extensas regiões do Brasil Central, após a derrubada de matas em terras férteis e formação de pastagens de *Panicum maximum* (Döbereiner et al. 1976). Mais recentemente, com a incorporação dos cerrados através de pastos cultivados ao criatório nacional, a sua ocorrência também foi registrada em solos de baixa fertilidade semeados, principalmente, com *Brachiaria decumbens*. Uma observação constante é a correlação entre a ocorrência da CI e a formação de pastagem em áreas nativas, com uma tendência natural ao declínio na sua prevalência com o decorrer dos anos na dependência do tipo de solo (Döbereiner 1990). Bezerros com processos ativos da

Quadro 1. Resultado do exame clínico da cavidade bucal de bezerros da Fazenda S.F., município de São Carlos, SP, com idades variando entre 9 e 18 meses e apresentando diferentes graus de retração gengival maxilar

Sexo	Número de bezerros examinados	Número de bezerros com lesões peridentárias	Porcentagem	Retração gengival maxilar					
				Lado esquerdo			Lado direito		
				Pd ₂ -Pd ₃ ^a	Pd ₃ -Pd ₄	Pd ₄ -M ₁ ^b	Pd ₂ -Pd ₃	Pd ₃ -Pd ₄	Pd ₄ -M ₁
Machos	197	125	63,4	8	82	32	10	75	44
Fêmeas	201	120	59,7	9	79	49	12	77	50
Total	398	245	61,5	17	161	81	22	152	94

^aPd = Premolar decíduo.

^bM = Molar.

Quadro 3. Resultado do exame clínico de bezerros pertencentes às Fazendas S.F. e C., situadas nos municípios de São Carlos e Barretos, SP, respectivamente, e dados do histórico da CI

Propriedade	Número de bezerros com "cara inchada" ^a	Número de bezerros com abaulamento facial	Estado geral		Coeficiente de mortalidade (%)
			Mau	Péssimo	
Fazenda S.F.	245	27	178	75	22,1
Fazenda C.	41	7	34	7	3,7

^a Com lesões peridentárias.

195 bezerros (22,1%); na Fazenda C. a perda foi somente de 3 animais (3,7%). (Fig. 1 a 4, Quadro 3)

Algumas considerações são possíveis quando se realiza uma análise retrospectiva do problema nas duas propriedades, considerando-se particularmente o histórico em conjunto com as observações clínico-patológicas. Epizootiológicamente a CI está associada à formação de pastagens em determinadas áreas virgens de matas ou cerrado (Döbereiner 1990), não havendo sido registrados até então surtos da doença relacionados à reforma destas áreas. Na Fazenda S.F. o primeiro aparecimento da CI foi observada após a formação de pastagens artificiais em áreas nativas, segundo histórico obtido, verificando-se um declínio espontâneo da prevalência da doença com o decorrer dos anos. Durante esse período não houve qualquer reforma de pasto na propriedade; a única área recentemente manejada foi destinada ao cultivo de cana-de-açúcar para a alimentação animal. Em agosto de 1990, aproximadamente 3 meses após o início da suplementação com a cana fornecida "ad libitum" aos bezerros, pode-se registrar a prevalência de 61,5% de CI no rebanho. Uma norma adotada, logo após a observação dos primeiros casos de CI na propriedade, era a de confinar os bezerros mais fracos que passavam a receber suplementação mineral e uma dieta exclusiva de cana-de-açúcar picada e capim Napier. Com isto foi observado um agravamento da situação, com alta mortalidade de animais num período relativamente curto.

Na Fazenda C., com a reforma de todos os pastos e manejo acentuado, através da aragem, gradeação, calagem e adubação, das áreas destinadas à capineira e silagem, houve o ressurgimento da CI em nível relativamente alto. A alimentação do rebanho na propriedade foi considerada boa, com os animais recebendo diariamente ração balanceada, suplemento mineral, silagem de milho e capim Napier. Mesmo com a intensificação na alimentação houve um emagrecimento progressivo dos animais, se-

guido de diarreia e diminuição da capacidade ruminal. Os prejuízos econômicos em decorrência da CI foram de grande monta, uma vez que se tratava de bezerros de alto valor zootécnico.

Numa análise retrospectiva, pode-se associar a reforma de áreas anteriormente positivas para CI, com o ressurgimento do problema após o manejo do solo e utilização das forrageiras cultivadas na alimentação animal nas duas propriedades. O comportamento epizootiológico da CI associado, portanto, com o manejo do solo, tanto na formação de pastagens em solos virgens, antes cobertos por mata ou vegetação de cerrado, quanto na reforma de determinadas áreas, traz indicações de pesquisa importantes para o prosseguimento de estudos relacionados com a etiopatogenia da doença.

REFERÊNCIAS

- Blobel H., Döbereiner J., Lima F.G.F. & Rosa I.V. 1984. Bacterial isolations from "Cara inchada"-lesions of cattle. *Pesq. Vet. Bras.* 4(3):73-77.
- Botteon R.C.C.M. 1991. Isolamento, caracterização e patogenicidade de bactérias associadas às lesões da "cara inchada" dos bovinos. Tese de Mestrado, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro. 100 p.
- Döbereiner J. 1990. Towards the etiology of "Cara inchada", a periodontal disease of young cattle in Brazil. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 97:482-490.
- Döbereiner J., Chaves J.A., Rosa I.V. & Houser R.H. 1975. Efeito da transferência de bovinos com "cara inchada" (doença peridentária) para pastos de região indene. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.* 10:99-103.
- Döbereiner J., Inada T. & Tokarnia C.H. 1974. "Cara inchada", doença peridentária em bovinos. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.* 9:63-85.
- Döbereiner J., Rosa I.V. & Lazzari A.A. 1976. "Cara inchada" (doença peridentária) em bezerros mantidos em pastos de *Panicum maximum*. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.* 11:43-47.
- Dutra I.S., Kanoe M. & Blobel H. 1986. Atividades enzimáticas e endotóxicas de bactérias isoladas de lesões peridentárias da "cara inchada" dos bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 6(2):59-63.
- Rosa I.V., Döbereiner J. & Blobel H. 1985. O efeito de tratamento com antibióticos sobre as lesões peridentárias da "cara inchada" dos bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 5(1):5-9.

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* (Compositae) EM OVINOS¹

ANÍBAL GUILLERMO ARMIÉN², PAULO VARGAS PEIXOTO³ e
CARLOS HUBINGER TOKARNIA⁴

ABSTRACT.- Armien A.G., Peixoto P.V. & Tokarnia C.H. 1992. [Experimental poisoning of sheep by *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* (Compositae).] Intoxicação experimental por *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* em ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 13(1/2): 5-20. Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970, Brazil.

The shoots of *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica*, collected in Santa Maria, Rio Grande do Sul, and the mature flowerless plant of the variety *weirii*, collected in Lages, Santa Catarina, were shown to be poisonous to sheep. Var. *megapotamica* was given orally in single doses to 12 sheep, and similarly, var. *weirii* to 8 sheep. The lethal dose was between 10 and 15 g/kg for var. *megapotamica* and 2 to 3 g/kg for var. *weirii*. Thus var. *weirii* was approximately 5 times as toxic as var. *megapotamica*. First symptoms were observed from 4h15min to 9h20min after administration of var. *megapotamica* and from 4h10min to 9h after var. *weirii* was given. The total period from ingestion of the plant to the animal's death was 23h55min to 71h10min with var. *megapotamica* and 36h25min to 105h55min with var. *weirii*. The clinical-pathological manifestations of poisoning were similar for both varieties, affected the digestive tract and were of acute progression. The main symptoms were anorexia, ruminal atonia, tachycardia and tachypnoea. Restlessness, depression, muscular tremors, volumous abdomen, dehydration, sialorrhoea and modification of faeces consistency were observed, as well as hypothermia in the terminal phase.

Post-mortem findings were oedema in the wall of the rumen and reticulum (mainly in poisoning by var. *weirii*) and congestion of the mucosa of the rumen, reticulum, abomasum and parts of the small and large intestine. These effects were more severe in poisoning by var. *weirii* than by var. *megapotamica*. Histological observations were severe necrosis of the epithelium of the rumen and reticulum, slight to severe necrosis of the abomasal epithelium (only in the poisoning by var. *weirii*) and necrosis of the lymphocytic elements in the lymphoid tissue of the spleen, mesenteric lymph nodes and Peyer's patches (mainly in poisoning by the var. *megapotamica*). To date, occurrence of natural poisoning of sheep by this plant has been registered only once, that by var. *weirii* in Santa Catarina.

Some data on poisonous plants to sheep in Latin America through a literature review are presented. Aspects of the poisonous action of trichothecenes and *B. megapotamica* var. *megapotamica* and var. *weirii* are discussed.

INDEX TERMS: Poisonous plants, *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica*, *Baccharis megapotamica* var. *weirii*, Compositae, experimental plant poisoning, sheep, pathology, trichothecenes, baccharinoids.

SINOPSE.- Em experimentos realizados com as partes aéreas frescas de *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica*, quando em brotação, colhida em Santa Maria, RS, e da var. *weirii*, quando adulta sem inflorescência, colhida em Lages, SC, foi demonstrado que os ovinos são sensíveis à intoxicação pelas duas variedades. Realizaram-se administrações únicas, por via oral, com a

var. *megapotamica* em 12 ovinos e com a var. *weirii* em 8 ovinos. A dose letal oscilou entre 10 e 15 g/kg para a var. *megapotamica* e entre 2 e 3 g/kg para a var. *weirii*. Portanto, a var. *weirii* foi aproximadamente 5 vezes mais tóxica que a var. *megapotamica*. Os primeiros sintomas foram observados, nos animais que morreram, de 4h15min a 9h20min após a administração da planta na intoxicação pela var. *megapotamica* e de 4h10min a 9h00min na intoxicação pela var. *weirii*. O prazo total entre a administração da planta e a morte dos animais sobreveio num período de 23h55min a 71h10min na intoxicação pela var. *megapotamica* e de 36h25min a 105h55min na intoxicação pela var. *weirii*. O quadro clínico-patológico foi semelhante na intoxicação pelas duas variedades, caracterizando-se por perturbações do trato digestivo e evolução aguda. Os principais sintomas foram anorexia, atonia ruminal, taquicardia e taquipnéia; também houve inquietação, de-

¹ Aceito para publicação em 3 de agosto de 1992.

Parte da tese de Mestrado do primeiro autor, realizada no Setor de Anatomia Patológica do Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970.

² Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ.

³ Departamento de Anatomia Patológica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Km 47, Seropédica, RJ 23851-970.

⁴ Departamento de Nutrição Animal, UFRRJ; bolsista do CNPq (305010/76-VT).

pressão, tremores musculares, abdômen volumoso, desidratação, sialorréia, modificações na consistência das fezes e hipotermia na fase terminal.

Os achados de necropsia consistiram em edema da parede do rúmen e retículo (principalmente na intoxicação pela var. *weirii*) e congestão da mucosa do rúmen, retículo, abomaso e segmentos dos intestinos delgado e grosso. Na intoxicação pela var. *weirii* os achados de necropsia foram levemente mais acentuados do que na intoxicação pela var. *megapotamica*. Histologicamente observou-se no rúmen e retículo, acentuada necrose do epitélio, no abomaso, leve até acentuada necrose do epitélio (somente na intoxicação pela var. *weirii*) e no tecido linfóide (baço, linfonodos mesentéricos e placas de Peyer), necrose dos elementos linfocitários (principalmente na intoxicação pela var. *megapotamica*). Até o momento só existem históricos e o estudo da ocorrência de um caso de intoxicação natural, em ovinos, pela var. *weirii*, no Estado de Santa Catarina.

São apresentados dados obtidos através de revisão de literatura sobre as plantas tóxicas da América Latina que afetam ovinos. São discutidos alguns aspectos sobre a ação tóxica dos tricótecos e *B. megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii*.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica*, *Baccharis megapotamica* var. *weirii*, Compositae, intoxicação experimental por planta, ovino, patologia, tricótecos, bacarínóides.

INTRODUÇÃO

Na América Latina são conhecidas dez plantas, de seis famílias diferentes, que, sob condições naturais, causam intoxicação em ovinos. Sete espécies crescem na América do Sul (Argentina, Uruguai, Paraguai e Brasil). Na parte Norte do Continente Americano, três espécies de plantas foram relatadas, todas no México. Doze outras plantas de cinco famílias distintas foram estudadas experimentalmente em ovinos, sob diversos aspectos. Uma relação dessas plantas, agrupadas de acordo com sua ação, é apresentada no Quadro 1.

O gênero *Baccharis* da família Compositae (sin. Arteraceae) é constituído por aproximadamente 350 espécies, todas nativas das Américas. No Brasil são conhecidas cerca de 120 espécies, distribuídas em maior concentração na Região Sul (Barroso 1976). Somente *Baccharis coridifolia* e *Baccharis megapotamica* foram, até o momento, confirmadas como tóxicas para animais de fazenda (Tokarnia & Döbereiner 1976; Tokarnia et al. 1992a). Em bovinos, as duas variedades de *B. megapotamica*, isto é, var. *megapotamica* e var. *weirii*, produzem alterações clínico-patológicas semelhantes, afetando principalmente o tubo digestivo, de evolução aguda; contudo, para essa espécie animal, a var. *weirii* é três a quatro vezes mais tóxica que a var. *megapotamica* (Tokarnia et al. 1992a).

As duas variedades de *B. megapotamica* são encontradas nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro (Serra dos Órgãos e de Itatiaia), São Paulo (Campos de Jordão), Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Na Argentina ocorrem no Departamento de Misiones (Barroso 1976). Até agora, só foram feitas observações e obtidos históricos sobre a intoxicação espontânea em bovinos pela var. *weirii*, no estado de Santa Catarina. Os bovinos comem a

Quadro 1. Plantas tóxicas para ovinos estudadas na América Latina

Nome científico da planta	Intoxicação natural/experimental	Evolução	Fonte do trabalho	Autor
Plantas que afetam o funcionamento do coração				
<i>Palicourea marcgravii</i>	Experimental	Agudo	Brasil	Tokarnia et al. 1986
Plantas que afetam, principalmente, o tubo digestivo				
<i>Baccharis coridifolia</i>	Natural	Agudo	Brasil	Tokarnia & Döbereiner 1976
<i>Vernonia nudiflora</i>	Experimental	Agudo	Brasil	Döbereiner & Tokarnia 1984
Plantas hepatotóxicas				
<i>Vernonia mollissima</i>	Natural	Agudo	Brasil	Gava et al. 1987
<i>Helenium intergrifolium</i>	Natural	Agudo	México	Aluja & Paasch 1973
<i>Senecio sanguisorbae</i>	Natural	Crônico	México	Rosiles & Paasch 1982
<i>Vernonia squarrosa</i>	Experimental	Agudo	Brasil	Tokarnia & Döbereiner 1983
<i>Seslea brasiliensis</i>	Experimental	Agudo/subagudo	Brasil	Chaulet et al. 1990
<i>Cestrum parqui</i>	Experimental	Agudo	Argentina	Lopez et al. 1978
<i>Vestia lycoides</i>	Experimental	?	Chile	Hitschfeld 1980
<i>Senecio erraticus</i>	Experimental	Crônico	Chile	Espinoza 1980
<i>Senecio brasiliensis</i>	Experimental	Crônico	Brasil	Barros et al. 1989
Plantas que causam, principalmente, perturbações nervosas				
<i>Poa huacu</i>	Natural	Agudo	Argentina	Carrillo et al. 1983
<i>Ipomoea fistulosa</i>	Natural	Crônico	Brasil	Tokarnia et al. 1960
<i>Ipomoea asarifolia</i>	Natural	Subagudo/crônico	Brasil	Döbereiner et al. 1960
<i>Conium maculatum</i>	Experimental	Agudo	Brasil	Tokarnia et al. 1985
<i>Solanum fastigiatum</i> var. <i>fastigiatum</i>	Experimental	Crônico	Brasil	Zambrano et al. 1985
Plantas que causam fotossensibilização primária				
<i>Arnica majus</i>	Experimental	Agudo	Argentina	Odrizola 1984
Plantas que causam calcificação sistêmica				
<i>Nierembergia veitchii</i>	Natural	Crônico	Brasil	Riet-Correa et al. 1987 Carrillo & Worker 1967
<i>Solanum malacoxylon</i>	Natural	Crônico	Argentina e Uruguai	Lignier 1912, Riet-Correa et al. 1975
Plantas de ação não determinada ou insuficientemente esclarecida				
<i>Lobelia berlandieri</i>	Natural	Agudo	México	Dollahite & Allen 1962, Lopes et al. 1991
<i>Leucaena leucocephala</i>	Experimental	Crônico	Brasil	Franzolin & Velloso 1986

planta quando há escassez dos pastos, durante secas pronunciadas; a var. *megapotamica* não é ingerida pelos bovinos, de acordo com informações copiladas na região (Tokarnia et al. 1992a). Em relação aos ovinos, os históricos e o estudo da ocorrência de um caso, confirmado pelos achados de necropsia e histopatológicos, indicam que a intoxicação natural pela var. *weirii* ocorre, no Estado de Santa Catarina (A. Gava, comunicação pessoal).

Há ainda outros aspectos que têm chamado a atenção para *B. megapotamica*. Kupchan et al. (1977), nos seus trabalhos de "screening" para encontrar plantas com substâncias antitumorais, verificaram a presença de bacarínóides (tricótecos macrocíclicos) em *B. megapotamica*, constatando sua alta atividade antileucêmica *in vivo*. Desta maneira, de acordo com Schiefer et al. (1989), os tricótecos têm despertado interesse, não só pelo papel que desempenham em certas intoxicações produzidas por alimentos contaminados por fungos produtores da toxina (Bamburg 1976) mas também por sua importante ação anticancerígena (Doyle & Bradner 1980) e ainda por, provavelmente, terem sido usados como armas químicas (Rossen & Rossen 1982; Watson et al. 1984; Schiefer 1988).

Este trabalho experimental teve por finalidade principal, verificar a susceptibilidade dos ovinos à planta, de-

terminar a dose letal, estabelecer os quadros clínico, anátomo e histopatológico e, desta maneira, oferecer subsídios seguros para o diagnóstico da intoxicação espontânea por *B. megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii*. Uma segunda finalidade foi verificar se os ovinos podem servir como animais experimentais na realização de outros estudos sobre a ação tóxica da planta ou seus princípios tóxicos, visto serem ruminantes de porte menor que os bovinos e, por isso, menos dispendiosos.

MATERIAL E MÉTODOS

Realizaram-se experimentos com a planta *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* (Fig. 1) e *B. megapotamica* var. *weirii*⁵ (Fig. 2)

⁵*Baccharis megapotamica* Sprengel, Syst. Veget., 3:461, 1826; Baker in Martius Fl. Bras. VI(3):68, 1882.

B. megapotamica var. *megapotamica*. Subarbusto; folhas lineares, com mais ou menos 4-5cm de comprimento e 5mm de largura, com margens revolutas, de ápice agudo e base levemente atenuada, pilosa no dorso; involúcro com 4-6mm de altura, 4-5mm de diâmetro, com 4-5 séries de brácteas involucrais obtusas, de textura mais ou menos firme; flores de 30-50; corola da flor feminina com 3-4mm de comprimento; aquênio com 1,5-2mm de comprimento.

num total de 20 ovinos machos e fêmeas mestiços, clinicamente sadios, com idade entre 10 e 60 meses, pesando entre 17 e 53 kg. Durante o ensaio, os animais foram mantidos, individualmente, em baias de alvenaria e alimentados com capim e ração concentrada; receberam água à vontade. O estudo foi executado no Setor de Anatomia Patológica (SAP) do Convênio Projeto Saúde Animal da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa)/Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), no município de Itaguaí, estado do Rio de Janeiro.

Utilizaram-se 12 ovinos nos experimentos com a brotação fresca da var. *megapotamica*, colhida no Município de Santa Maria, Rio Grande do Sul, em 24 de junho de 1991 e oito ovinos nos experimentos com as partes aéreas frescas da var. *weirii* adulta sem inflorescência, colhida no Município de Lages, Santa Catari-

Ocorrência: Minas Gerais, Rio de Janeiro (Itatiaia), São Paulo, Santa Catarina, Rio Grande do Sul.

Baccharis megapotamica var. *weirii* (Baker) G.M. Barroso, Rodriguesia 28(40):102, 1976.

Bas. *Baccharis megapotamica* var. *weirii* Baker, in Fl. Bras. VI(3):67, 1882.

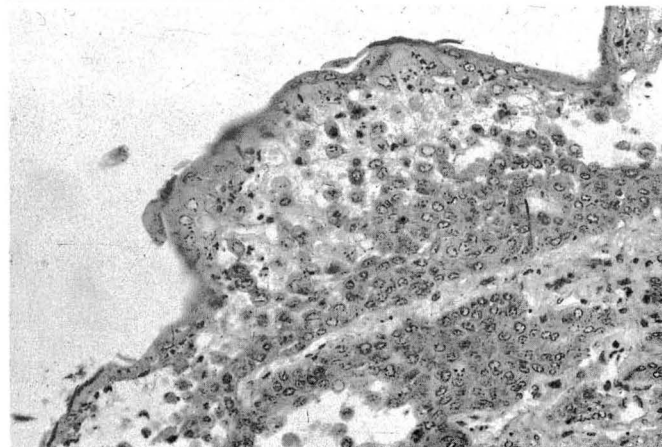
Folhas mais curtas e mais estreitas, dispostas mais densamente que na var. *megapotamica*. Ocorrência: São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.



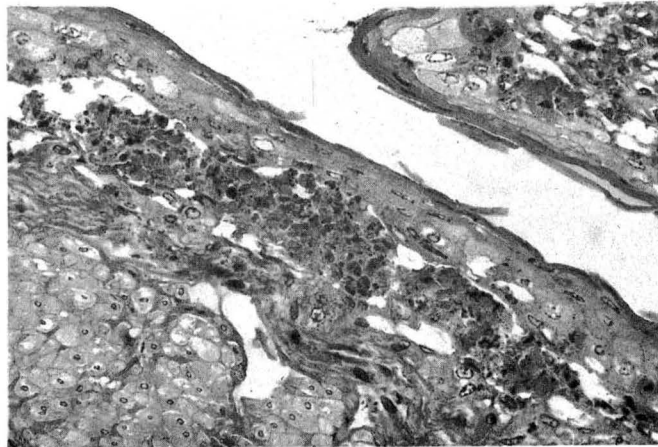
1



2



3



4

Fig. 1. *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica*, planta com inflorescências. Mun. Santa Maria, Rio Grande do Sul.

Fig. 3. Rúmen, necrose acompanhada de dissociação celular, caracterizada por picnose e cariorréxia das células epiteliais dos estratos granuloso e espinhoso. Intoxicação experimental por *B. megapotamica* var. *megapotamica* (Ov. 11, SAP 25214). HE, obj. 25.

Fig. 2. *Baccharis megapotamica* var. *weirii*, planta adulta sem inflorescências. Mun. Lages, Santa Catarina.

Fig. 4. Omaso, necrose dos estratos profundos, espinhoso e basal, caracterizada por picnose e cariorréxia. Intoxicação experimental por *B. megapotamica* var. *megapotamica* (Ov. 11, SAP 25214). HE, obj. 40.

na, em 10 de julho de 1991. Em seguida à coleta, a planta foi acondicionada em câmara fria com 4 a 6°C até seu emprego. A administração foi feita, manualmente, por via oral, em doses únicas, a ovinos em jejum prévio de 12 horas. Estas doses foram de 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 7,5; 10,0; 15,0 e 20,0g/kg nos experimentos com a var. *megapotamica* e de 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0g/kg nos experimentos com a var. *weirii*. Adicionalmente repetiram-se, para complementação, as quatro dosagens mais elevadas (de ambas as variedades).

Exames clínicos foram realizados quatro vezes ao dia, a partir da administração da planta, avaliando-se e cronometrando-se os parâmetros a seguir: atitude, posição, comportamento, apetite, dipsia, coloração das mucosas externas, aspecto das fezes, motilidade ruminal, freqüências cardíaca e respiratória, e temperatura retal.

Nos animais que morreram a necropsia foi realizada imediatamente, coletando-se para estudos histopatológicos, amostras de coração, pulmão, rim, fígado, pâncreas, das diversas partes do tubo digestivo, adrenal, baço, linfonodos e encéfalo. As amostras foram fixadas em formalina a 10%, desidratadas, diafanizadas, incluídas em parafina, cortadas a 5 µm de espessura e coradas pela técnica de hematoxilina-eosina (HE).

RESULTADOS

Os principais dados dos experimentos com *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* são apresentados nos Quadros 2, 3, 4 e 5. A seguir são fornecidos os resultados mais importantes.

Experimento com a brotação fresca de B. megapotamica var. *megapotamica*

B. megapotamica var. *megapotamica* mostrou-se tóxica para ovinos. Os animais que receberam doses de 20g/kg (2 ovinos) e 15g/kg (2 ovinos) morreram. Dos ovinos que receberam 10g/kg, um morreu, o outro apresentou acentuados sintomas de intoxicação; os animais que receberam 7,5g/kg, manifestaram sintomas acentuados. O único animal que ingeriu 5g/kg mostrou sintomas moderados e o único que recebeu 4g/kg apresentou sintomas leves. Doses de 3g/kg e 2g/kg, cada uma administrada a um ovino, não causaram sintomas de intoxicação.

Os *sintomas*, nos experimentos que terminaram com a morte dos animais (5 ovinos), desenvolveram-se de

Quadro 2. Experimentos em ovinos com *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii*

Ovinos		Administração				Sintomas			
Nº (SAP) ^a	Peso kg	Data	Quantidade g	Dose g/kg	Infício dos sint. após administração	Evolução	Desfecho	Morte após administração	Recuperação após administração
<i>Experimentos com a brotação fresca de Baccharis megapotamica</i> var. <i>megapotamica</i>									
04	29,0	26.6.91	58,0	2,0	-	-	Sem sint.	-	-
01	32,5	26.6.91	97,5	3,0	-	-	Sem sint.	-	-
03	42,5	26.6.91	171,0	4,0	20h14min	32h46min	Sint. + ^b	-	53h00min
02	32,5	26.6.91	162,5	5,0	21h28min	46h17min	Sint. ++	-	67h45min
07	28,5	28.6.91	214,75	7,5	11h55min	107h40min	Sint. +++	-	119h35min
14	32,0	05.7.91	240,0	7,5	14h55min	96h30min	Sint. +++	-	111h25min
08	26,0	28.6.91	260,0	10,0	10h40min	108h00min	Sint. +++	-	118h40min
13	20,5	02.7.91	205,0	10,0	9h00min	62h10min	Morreu	71h10min	-
(25242-48)									
09	24,0	30.6.91	360,0	15,0	9h20min	16h50min	Morreu	26h10min	-
(25214-20)									
12	25,0	02.7.91	375,0	15,0	9h15min	32h20min	Morreu	41h35min	-
(25235-41)									
11	22,5	02.7.91	450,0	20,0	7h50min	16h05min	Morreu	23h55min	-
(25228-34)									
10	26,0	30.6.91	520,0	20,0	4h15min	20h30min	Morreu	24h45min	-
(25221-27)									
<i>Experimentos com partes aéreas frescas de Baccharis megapotamica</i> var. <i>weirii</i> adulta sem inflorescência									
21	21,0	19.7.91	21,0	1,0	18h13min	34h00min	Sint. ++	-	52h13min
22	53,0	19.7.91	53,0	1,0	18h55min	32h55min	Sint. ++	-	51h50min
20	17,5	17.7.91	35,0	2,0	8h27min	95h37min	Sint. +++	-	104h04min
15	23,5	17.7.91	47,0	2,0	9h00min	31h51min	Morreu	40h51min	-
(25284-90)									
19	31,0	13.7.91	93,0	3,0	4h25min	36h48min	Morreu	41h13min	-
(25252-59)									
16	26,0	15.7.91	78,0	3,0	7h15min	98h40min	Morreu	105h55min	-
(25291-97)									
17	33,0	13.7.91	132,0	4,0	4h10min	46h38min	Morreu	50h48min	-
(25260-66)									
18	17,0	15.7.91	68,0	4,0	7h05min	29h20min	Morreu	36h25min	-
(25277-83)									

^a Número de registro do material para exame histopatológico, Setor de Anatomia Patológica, Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ.

^b +++ Sintomas acentuados, ++ moderados, + leves.

Quadro 3. Alterações macroscópicas do tubo digestivo de ovinos experimentalmente intoxicados com *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii*

Ovinos nº (SAP) ^a	Rúmen					Retículo		Abomaso		Duodeno		Jejuno		Íleo		Ceco		Cólon proximal			
	Sulcos longi- tudinal e coronários		Saco dorsal		Saco ventral		Edema da parede	Congestão da mucosa	Edema da parede	Congestão e/ou he- morragia da mucosa	Edema da parede	Congestão da mucosa	Edema da parede	Congestão da mucosa		Edema da parede	Congestão da mucosa	Edema da parede	Congestão da mucosa	Edema da parede	Congestão da mucosa
	Edema	Edema da pa- rede	Conges- tão da mucosa	Edema da pa- rede	Conges- tão da mucosa	Congestão da mucosa								Congestão da mucosa							
						em segmentos	na parte final ^e	em segmentos	na parte final ^e												
<i>Experimentos com a brotação fresca de B. megapotamica var. megapotamica</i>																					
13 (25242-48)	++ ^b	+	+	+	+	+	(+)	+	+(+)	(+)	-	+	-	+	+(+)	+	+	-	(+)	-	-
09 (25214-20)	-	+	+	+	-	-	-	+	++	+	+	+	-	+	++	-	+(+)	+	++	-	+
12 (25235-41)	-	-	+	-	+	-	+	+	++(+)	+(+)	-	+	-	-	-	-	(+)	-	+	-	-
11 (25228-34)	-	-	+	-	-	-	-	+	+++	++	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-
10 (25221-27)	-	-	+	-	-	-	-	+	++(+)	+(+)	-	++	-	+	++	-	+	-	++	-	+
<i>Experimentos com as partes aéreas de B. megapotamica var. weirii adulta sem inflorescência</i>																					
15 (25284-90)	+(+)	+	+	+	-	+	+	+	+++	++	+	++	+	+	+(+)	+	+	-	++	(+)	++
19 (25252-59)	+++	+	+ ^f	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+(+)	+	+(+)	+	+
16 (25291-97)	+(+)	+	+	+	(+)	+	+	+ ^c	+++	++	+(+)	++	+	++	-	-	+(+)	+(+)	+(+)	-	+
17 (25260-66)	+++	+	+ ^f	+	-	+(+)	+	+(+)	+++	+++	+	+	-	++	+++	-	+	-	+	++	+
18 (25277-83)	+(+)	+(+)	+	+(+)	-	+	+	+	+++ ^d	+(+)	+	+	-	+	-	+	-	+	+	++	-

^a Número de registro do material para exame histopatológico, Setor de Anatomia Patológica, Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ.

^b +++ Lesões acentuadas, ++ moderadas, + leves, (+) discretas, - ausentes.

^c Na zona pilórica edema +++.

^d Congestão da mucosa numa extensa área, no abomaso.

^e Último metro do jejuno.

^f No saco cranial dorsal (átrio), congestão da mucosa +(+).

Quadro 4. Alterações microscópicas dos pré-estômagos de ovinos experimentalmente intoxicados por *Baccharis megapotamica* var. megapotamica e var. weirii

Ovinos Nº	Rúmen				Retículo				Omaso			
	Necrose do epitélio			Edema do córion	Necrose do epitélio			Edema do córion	Necrose do epitélio			Edema do córion
	Estrato granuloso	Estrato espinhoso	Estrato basal		Estrato granuloso	Estrato espinhoso	Estrato basal		Estrato granuloso	Estrato espinhoso	Estrato basal	
(SAP) ^a												
<i>Experimentos com a brotação fresca de B. megapotamica var. megapotamica</i>												
13 (25242-48)	+++ ^b	+++	+++ ^B ^c	+(+)n ^B	+++	++(+)	++n ^b	+n ^b	+++	++	++n ^b	+n ^b
09 (25214-20)	+++	+++n ^b	+++n ^(b)	+n	+++	+(+)	(+)	-n ^b	+	-	-	-(n)
12 (25235-41)	+++	+++	+++n ^(b)	(+)n ^(b)	+++	+++	+++n ^B	+n ^B	+++	+++n ^b	(+)	(+)
11 (25228-34)	+b	+++	+++	-	+	+++ ^b	+++	-	(+) ^b	++	+	-
10 (25221-27)	+++	+++n ^b	++	(+)n	+b	+++	++(+)	-(n)	+++ ^b	+	-	-(n)
<i>Experimentos com as partes aéreas de B. megapotamica var. weirii adulta sem inflorescência</i>												
15 (25284-90)	+++	++(+)	++(+)(n) ^b	+(n) ^b	+++	+++n ^B	++(+) ⁿ ^b	+(+) ⁿ ^b	+++n ⁽ⁿ⁾ ^b	++(+)	-	-
19 (25252-59)	+++	+++	+++n ^b	++(+) ⁿ ^b	+++	+++	+++n ^b	+++n ^b	+++	+n ^b	+n ^b	-
16 (25291-97)	+++	+++	+++n ^B	(+)n ^B	+++	+++	+++n ^B	++n ^B	+++	++(+) ⁿ ^b	+	-n ^b
17 (25260-66)	+++	++(+)	++(+) ⁿ ^b	+n ^b	++(+)	++	++n ^b	+n ^b	+	+	+(n ^b)	-(n ^b)
18 (25277-83)	+++	+++	+++	+++n	+++	+++n	+n	+n	++(n)	(+)	-	-

^a Número de registro do material para exame histopatológico, Setor de Anatomia Patológica, Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ.

^b +++ lesão acentuada, ++ moderada, + leve, (+) discreta, - ausente.

^c Invasão bacteriana, B acentuada, ^b moderada, b leve, (b) discreta. Infiltração por neutrófilos, N acentuada, ⁿ moderada, n leve, (n) discreta.

Quadro 5. Alterações microscópicas do abomaso, fígado e tecido linfóide de ovinos experimentalmente intoxicados por *Baccharis megapotamica* var. megapotamica e var. weirii

Ovinos Nº SAP ^a	Abomaso			Fígado				Tecido linfóide		
	Mucosa		Submucosa Edema	Necrose na zona interme- diária	Tumefação	Necrose individual de hepatócitos	Necrose incipiente de hepatócitos	Necrose		
	Necrose	Congestão						Baço	Linfo- nodos mesen- téricos	Placas de Peyer
<i>Experimentos com a brotação fresca de B. megapotamica var. megapotamica</i>										
13 (25242-48)	-	-	-	-	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-
09 (25214-20)	-	-	-	+ ^b	++(+)	+	+	+	(+)	(+)
12 (25235-41)	-	-	-	-	+	(+)	-	-	-	-
11 (25228-34)	(+) ^d	(+) ^d	-	-	+	(+)	(+)	(+)	-	(+)
10 (25221-27)	-	-	-	-	+	(+)	-	(+)	(+)	++(+)
<i>Experimentos com as partes aéreas de B. megapotamica var. weirii adulta sem inflorescência</i>										
15 (25284-90)	+ ^b ^c	++	++	-	+	-	(+)	(+)	-	-
19 (25252-59)	+ ^d	+ ^d	+	-	++(+)	-	(+)	-	-	-
16 (25291-97)	+++ ^c ^B	+ ^f	+++ ^e	-	+	-	(+)	-	-	-
17 (25260-66)	++(+) ^b	++	++(+)	-	+	-	(+)	-	-	-
18 (25277-83)	++(+) ^b	++	++(+)	-	+	-	(+)	-	-	-

^a Número do registro do material para exame histopatológico, Setor de Anatomia Patológica, Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ.

^b +++ lesão acentuada, ++ moderada, + leve, (+) discreta, - ausente.

^c Invasão bacteriana, B acentuada, ^b moderada, b leve, (b) discreta. Infiltração por neutrófilos, N acentuada, ⁿ moderada, n leve, (n) discreta.

^d Foco na prega omaso-abomasal.

^e Lesão na região pilórica.

^f Lesão na região fúndica.

4h15min a 9h20min e nos que finalizaram com a recuperação (5 ovinos), manifestaram-se de 10h40min a 21h28min após a administração da planta. A evolução da intoxicação, nos casos fatais, variou de 16h05min a 62h10min e nos casos não fatais, variou de 32h46min a 108h00min. Os ovinos morreram entre 23h55min e 71h10min ou estavam recuperados 53h00min a 119h35min após a administração da planta. As *manifestações clínicas* observadas, em todos os ovinos que adoeceram mais gravemente (Ov. 02, 07, 14, 08, 13, 09, 12, 11, 10)⁶ foram anorexia, atonia ruminal, taquicardia e taquipnéia. Nos animais que morreram (Ov. 13, 09, 12, 11, 10) houve ainda polidipsia (Ov. 13, 11), desidratação (Ov. 12, 11, 10), fezes ressequidas com muco (Ov. 12), líquidas (Ov. 09) ou líquidas com muco e fibrina (Ov. 13, 11), tenesmo e gemidos (Ov. 13, 11), desconforto manifestado pela ação freqüente de se levantar e se deitar (Ov. 13, 09, 12, 11, 10), ranger dos dentes (Ov. 13, 10), pisar no mesmo lugar (Ov. 11), andar rígido (Ov. 09, 12, 11, 10) e dorso arqueado (Ov. 12, 11). Na fase final da intoxicação, os animais ficavam em decúbito esterno-abdominal (Ov. 13, 09, 12, 11, 10), com a cabeça apoiada no chão e pescoço em "S" (Ov. 13, 09, 12, 11) ou apoiada no flanco direito (postura de auto-auscultação) (Ov. 10), apresentavam dispnéia (Ov. 13, 09, 12, 11, 10), com gemidos (Ov. 13, 12), sialorréia (Ov. 13, 09, 10), queda da temperatura (Ov. 12, 11, 10), decúbito lateral, manifestações convulsivas e parada respiratória com morte (Ov. 13, 09, 12, 11, 10). Outras manifestações clínicas, também observadas em alguns casos não fatais, foram tremores musculares (Ov. 14, 08, 09, 12, 10), mucosa ocular congesta (Ov. 08, 13, 10), com secreção catarral (Ov. 12, 10), depressão (Ov. 07, 13, 09, 11, 10), movimentos mastigatórios vazios (Ov. 07, 13), abdômen volumoso (Ov. 08, 09, 12, 11, 10) e fezes pastosas (Ov. 02). Nos animais que se recuperaram, foram típicos da convalescença, hipomotilidade ruminal (Ov. 03, 02, 07, 14, 08) e, nos casos mais graves, movimentos ruminais irregulares (Ov. 07, 14, 08).

Os *achados de necropsia* mais importantes relacionaram-se ao tubo digestivo e foram caracterizados por espessamento da parede por edema e congestão da mucosa, em diferentes porções e graus de intensidade. No rúmen, o edema da parede ocorreu nos sacos dorsal e ventral, em dois casos (Ov. 13, 09); num deles, foi nítido nos sulcos longitudinal e coronários (Ov. 13). No saco dorsal houve congestão da mucosa, abrangendo extensas áreas de contornos irregulares, em todos os cinco casos e no saco ventral, em dois casos (Ov. 13, 12); no entanto, no saco dorsal-cranial (átrio) a congestão foi difusa, em todos os cinco casos. Em um caso (Ov. 13), as papilas da mucosa do rúmen mostraram-se mais espessadas e aglutinadas, com sua camada epitelial desprendendo-se facilmente. No retículo, foi constatado edema da parede, em um caso (Ov. 13) e congestão difusa da mucosa, em dois casos (Ov. 13, 12). Em todos os cinco casos, no abomaso, hou-

ve edema da parede e congestão da mucosa, sempre levemente mais intensa nas dobras. Nos intestinos, o edema da parede foi pouco freqüente; congestão difusa da mucosa ocorreu freqüentemente no duodeno, íleo e/ou ceco, em todos os cinco casos. No jejuno, a congestão comprometia segmentos ao longo de todo seu trajeto, sendo um pouco mais intensa na sua parte final (último metro) (Ov. 13, 09, 10). Também verificaram-se poucas hemorragias equimóticas endocárdicas no ventrículo esquerdo, em todos os cinco casos. O fígado apresentou-se um pouco mais claro (Ov. 13, 09, 11) ou pouco mais avermelhado (Ov. 10).

Os principais *achados histopatológicos* foram encontrados nos pré-estômagos e no tecido linfóide. Nos pré-estômagos, as alterações microscópicas foram representadas por necrose do tipo coagulativa caracterizada por picnose, cariorrexia e cariólise nos diferentes estratos do epitélio. Três aspectos da necrose puderam ser distinguidos.

"Necrose acompanhada de dissociação celular" caracterizou-se por edema intercelular com perda da coesão entre as células e subsequente individualização. Observou-se, às vezes, entre essas células, no líquido edematoso, a presença de fibrina ou grandes espaços vazios. As células epiteliais mostraram variáveis graus de eosinofilia (coagulação das proteínas citoplasmáticas) ou palidez com inchaço e vesiculação citoplasmática, em ambos os casos, associados a picnose e cariorrexia. A lesão afetava grandes extensões do epitélio, acometendo os estratos granuloso e espinhoso e focalmente o estrato basal (rúmen, Ov. 09, 10) (Fig. 3) ou o estrato granuloso e parte superficial do estrato espinhoso (rúmen, Ov. 12; retículo, Ov. 09). Também houve leve infiltração por neutrófilos intraepiteliais, além de leve invasão bacteriana, nos diferentes estratos do epitélio.

"Necrose dos estratos profundos" ocorreu somente em dois casos (rúmen, retículo, omaso, Ov. 11; retículo, Ov. 10) (Fig. 4). A lesão caracterizou-se por grandes extensões em que as células dos estratos espinhoso e basal apresentaram citoplasma fortemente eosinófilo, retraído e/ou sob a forma de grumos, acompanhado de picnose e cariorrexia. Em decorrência desta alteração, fissuras paralelas à superfície do epitélio foram observadas. Por outro lado, as células do estrato granuloso apresentaram citoplasma acentuadamente distendido e nitidamente mais claro, às vezes com núcleo vesiculoso e marginação da cromatina ("degeneração hidrópica balonosa").

"Necrose maciça" caracterizou-se por extensas áreas de necrose das células de todos os estratos do epitélio. As células epiteliais apresentaram citoplasma eosinofílico com núcleos fragmentados (cariorrexia) ou ausentes, dando, às vezes, a impressão de que todo o epitélio formava uma massa uniformemente homogênea e eosinófila com muitos detritos nucleares (rúmen, Ov. 09, 10) (Fig. 5). Concomitantemente, ocorreu leve até acentuada invasão bacteriana e também desnudamento do córion (rúmen e retículo, Ov. 13).

⁶ Ovino 14 não apresentou taquipnéia.

A intensidade e ocorrência dos três aspectos da necrose nos pré-estômagos variaram de área para área (Ov. 09, 12, 10) ou entre cavidades pró-ventriculares. No rúmen e retículo, as lesões foram acentuadas, no omaso foram sempre de menor expressão. Todavia, em dois ovinos, o caráter da lesão manteve-se uniforme: no ovino 11 houve somente "necrose dos estratos profundos" (rúmen, retículo e omaso) e no ovino 13, "necrose maciça" com desnudamento do córion (rúmen, retículo e omaso).

O córion evidenciou acentuada hialinização e fragmentação das fibras colágenas; nas papilas, houve, com frequência, edema rico em fibrina, dilatação dos pequenos vasos, congestão e, ocasionalmente, trombose. Infiltração por neutrófilos foi verificada, mais comumente, nas áreas onde houve invasão bacteriana e/ou desnudamento do córion. No ovino 13, nos músculos oblíquo interno e oblíquo externo do retículo, observou-se necrose leve/moderada, caracterizada por variáveis graus de eosinofilia e aumento de volume do citoplasma dos miócitos, associados a alterações nucleares de picnose ou desaparecimento de núcleos; paralelamente grupos de fibras mostraram-se tumefeitos ou vacuolizados ou com lise do citoplasma.

No tecido linfóide ocorreu necrose com picnose e cariorrexia somente nos centros germinativos dos folículos, os quais foram afetados em números variáveis. No baço a necrose foi observada em quatro casos (Ov. 13, 09, 11, 10) (Fig. 6) e sua intensidade variou de discreta a leve; nos linfonodos mesentéricos foi discreta em três casos (Ov. 13, 09, 10); nas placas de Peyer do ileo ocorreu em três casos (Ov. 09, 11, 10) e variou de discreta a leve/moderada.

No fígado as alterações foram de menor expressão. Em todos os cinco casos, os hepatócitos, principalmente nas zonas centrais e intermediárias do lóbulo e, em menor proporção, na periferia do lóbulo, mostraram de discreta até leve/moderada tumefação. Estas células apresentaram, ainda, leve vacuolização, principalmente no centro do

lóbulo. Somente no ovino 09 ocorreu leve necrose coagulativa e a presença de esférulas eosinófilas na luz de capilares (corpúsculo de choque) distribuídas irregularmente no lóbulo. Em todos os casos, observaram-se, distribuídos aleatoriamente no lóbulo, hepatócitos com citoplasma eosinófilo e retraído acompanhado de picnose e cariorrexia (necrose individual de hepatócitos), e hepatócitos com citoplasma eosinófilo e núcleos com variáveis graus de retração e hiperromatismo (necrose incipiente), ambas as alterações com intensidade que variou de discreta até leve. Ainda, houve presença de neutrófilos na luz de sinusóides e veias (Ov. 09, 11, 10) e trombos nos ramos da veia porta (Ov. 13, 09).

Experimentos com as partes aéreas frescas de B. megapota mica var. weirii adulta, sem inflorescência

B. megapota mica var. weirii mostrou-se tóxica para ovinos. Os animais que receberam doses de 4g/kg (2 ovinos) e 3g/kg (3 ovinos) morreram; dos dois ovinos que receberam 2g/kg, um morreu e o outro apresentou acentuados sintomas de intoxicação; os dois ovinos que ingeriram 1g/kg mostraram moderada sintomatologia.

Nos experimentos que terminaram com a morte dos animais (5 ovinos), os primeiros sintomas manifestaram-se de 4h10min a 9h e nos que se recuperaram (3 ovinos) de 8h27min a 18h55min após a administração da planta. A evolução da intoxicação, nos casos fatais, variou de 29h20min a 98h40min e nos casos não fatais, de 32h55min a 95h37min. Os ovinos morreram entre 36h25min e 105h55min, ou estavam recuperados entre 51h50min e 104h04min, após a administração da planta.

As manifestações clínicas, em todos os ovinos que adoeceram (Ov. 21, 22, 20, 15, 19, 16, 17, 18) foram anorexia, atonia ruminal, taquicardia e taquipnéia⁷ Nos animais que morreram (Ov. 15, 19, 16, 17, 18), houve ainda depressão (Ov. 19, 16, 18), longa permanência em estação olhando para o flanco direito, com manifestações

⁷ Os ovinos 21, 22 e 20 não apresentaram taquipnéia.

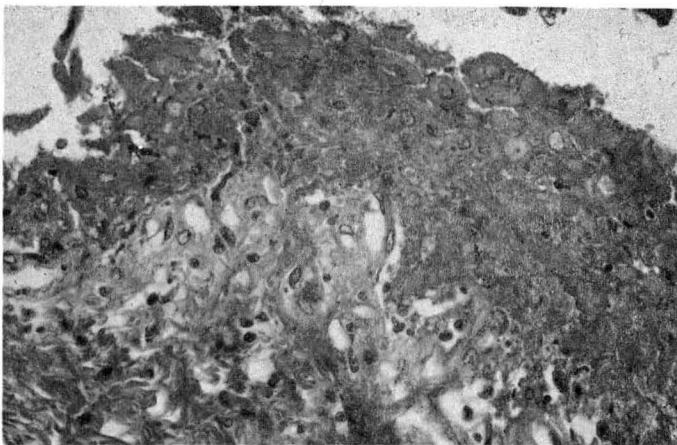


Fig. 5. Rúmen, necrose maciça, caracterizada pela morte das células de todos os estratos do epitélio. Intoxicação experimental por *B. megapota mica var. megapota mica* (Ov. 10, SAP 25222). HE, obj. 40.

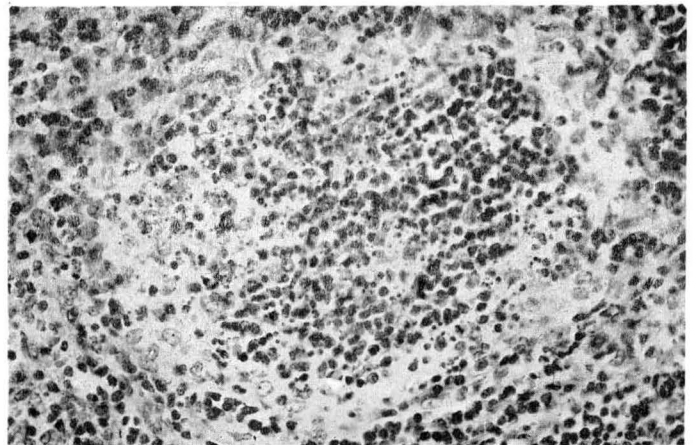


Fig. 6. Baço, necrose com picnose e cariorrexia de células linfóides, em folículo. Intoxicação experimental por *B. megapota mica var. megapota mica* (Ov. 9, SAP 25219). HE, obj. 40.

de dor à palpação da região abomasal (Ov. 16), pêlos arrepiados (Ov. 16 e 17), mucosa ocular avermelhada (Ov. 15, 19, 16 e 17), polidipsia (Ov. 16), acentuada desidratação (Ov. 16, 17 e 18), hipomotilidade e movimentos ruminiais irregulares (Ov. 16), fezes pastosas (Ov. 15, 19 e 16) e líquidas com muco e fibrina (Ov. 18), tenesmo (Ov. 15), desconforto, manifestado pela ação freqüente de levantar-se e deitar-se (Ov. 15, 19, 16, 17 e 18), ao levantar-se mostraram andar desequilibrado (Ov. 15, 17 e 18), em círculo (Ov. 15) ou rígido (Ov. 16). Nas fases finais da intoxicação, os animais ficavam em decúbito esterno-abdominal, com a cabeça apoiada no flanco direito (postura de auto-auscultação) (Ov. 15, 16, 17, 18, 19), dispnéia (Ov. 15, 19, 17, 18) gemidos (Ov. 18, 17), sialorréia (Ov. 15, 19, 16, 17, 18) leve hipertermia (Ov. 19) ou hipotermia (Ov. 16, 17, 18), em decúbito lateral, manifestações convulsivas e parada respiratória com morte (Ov. 15, 19, 16, 17, 18). Outras alterações clínicas, sobretudo observadas em casos não fatais, foram inquietude (Ov. 20 e 15), ranger de dentes (Ov. 20, 15, 19 e 16), pisar no mesmo lugar (Ov. 16, 20), dorso arqueado (Ov. 20, 15, 16, 17), tremores musculares (Ov. 22, 20, 19, 16, 17, 18), ligeira hipertermia (Ov. 21, 19), movimentos mastigatórios vazios (Ov. 21, 15, 16) e abdômen volumoso (Ov. 20, 16, 17). Nos animais que se recuperaram foram típicos da convalescença, hipomotilidade e movimentos ruminiais irregulares (Ov. 21, 22, 20).

Os achados de necropsia mais importantes foram observados no tubo digestivo. No rúmen, o edema da parede foi constante (Ov. 15, 19, 16, 17, 18), principalmente de forma mais marcada nos sulcos longitudinal e coronários. Congestão da mucosa foi observada no saco dorsal em todos os casos (Ov. 15, 19, 16, 17, 18) e no saco ventral em um único caso (Ov. 16), atingindo, geralmente, extensas áreas de contornos imprecisos, contudo, no saco dorsal-cranial (átrio), a congestão foi difusa, em todos os cinco casos e discretamente mais acentuada, em dois casos (Ov. 19, 17). As papilas do rúmen mostraram-se espessadas e aglutinadas com sua camada epitelial desprendendo-se facilmente. Em três casos (Ov. 15, 16, 17), foram vistas áreas com ausência ou apenas vestígios de papilas.

No retículo, edema da parede e congestão difusa da mucosa foram observadas em todos os casos; em dois casos (Ov. 16, 17), a camada epitelial da mucosa se desprendia com facilidade.

No abomaso, com exceção do ovino 19, houve marcada congestão e/ou hemorragia da mucosa, que foi mais intensa nas dobras. Excepcionalmente, o ovino 16 apresentou acentuada inflamação difusiva da mucosa, na região pilórica. Em todos os casos, nos intestinos, o espessamento da parede, por edema, foi freqüente. Congestão difusa da mucosa apareceu no duodeno (Ov. 15, 16, 17, 18), fêo (Ov. 15, 16, 17) e ceco (Ov. 15, 19, 16, 17, 18). No jejuno (Ov. 15, 16, 17, 18) e cólon proximal (Ov. 15, 19, 16, 17) a congestão atingiu segmentos ao longo de

todo seu trajeto, sendo, na parte final do jejuno, somente no ovino 17, bastante acentuado (metro final). Em um caso (Ov. 15) ocorreu, no pulmão, edema em forma de espuma, na traquéia e nos brônquios (Ov. 15). O fígado apresentou-se um pouco mais claro (Ov. 19, 17) ou um pouco mais avermelhado (Ov. 15, 16).

Os achados histopatológicos importantes restringiram-se aos pré-estômagos e ao abomaso. Nos pré-estômagos, as alterações microscópicas foram representadas por acentuada necrose coagulativa com picnose, cariorexia e cariólise nos vários estratos do epitélio da mucosa. "Necrose acompanhada de dissociação celular" afetou todos os estratos em todos os proventrículos, somente no ovino 18, nos demais (Ov. 15, 19, 16, 17) afetou o estrato granuloso e a parte superficial do estrato espinhoso, no retículo em dois casos (Ov. 15, 18) e no omaso em quatro casos (Ov. 15, 19, 17, 18). No rúmen (Ov. 15, 19, 17), verificaram-se focos deste tipo de necrose, intercalando-se com áreas de "necrose maciça". Ocasionalmente a "necrose acompanhada de dissociação celular" foi vista somente afetando a parte intermediária das papilas; com freqüência a porção necrosada se desprendia. Paralelamente, nestes focos, as células epiteliais da parte profunda do estrato espinhoso e do estrato basal mostraram variáveis graus de edema intracelular. "Necrose dos estratos profundos" foi observada somente no rúmen, no ovino 18, sempre em pequenos focos, intercalando-se com "necrose acompanhada de dissociação celular" e "necrose maciça". "Necrose maciça" esteve presente, em todos os cinco casos (rúmen, Ov. 15, 19, 16, 17, 18; retículo, Ov. 19, 16; omaso, Ov. 16). O processo foi freqüentemente acompanhado por desnudamento de extensas áreas do córion, além de acentuada invasão bacteriana do epitélio. Também foram observadas áreas de epitélio íntegro (Ov. 19, 16, 17).

A intensidade e ocorrência da lesão foram muito variáveis de foco para foco e de área para área. O rúmen e retículo foram as cavidades mais gravemente lesadas (lesões acentuadas). No omaso, com exceção do ovino 16, observaram-se lesões de menor intensidade. No córion, constatou-se acentuada hialinização e fragmentação das fibras colágenas; nas papilas houve edema rico em fibrina, dilatação dos pequenos vasos, congestão, hemorragias e, ocasionalmente, trombose. Ainda verificou-se infiltração por neutrófilos, mais comumente nas áreas de necrose com desnudamento do córion e invasão bacteriana. No retículo dos ovinos 15 e 19, observou-se, nos músculos oblíquo interno e oblíquo externo, leve/moderada necrose de grupos de miócitos, caracterizada por variáveis graus de eosinofilia e aumento de volume das fibras, associados às alterações nucleares de picnose ou desaparecimento do núcleo; paralelamente outros grupos de fibras mostraram tumefação, vacuolização ou lise do citoplasma. Na serosa houve moderado edema rico em fibrina.

No abomaso de três animais (Ov. 15, 17, 18) ocorreu necrose coagulativa de leve até leve/moderada. Na região fúndica, a lesão atingiu todo o epitélio, em extensas

áreas, principalmente, nas dobras (Ov. 17, 18). Em outras áreas da mucosa, a lesão afetou só a parte superficial (Ov. 15) (colo e parte superior do corpo das glândulas fúndicas). Ainda houve congestão e presença de edema na própria e na submucosa, e edema entre as fibras da muscular interna e externa, além de discreta invasão por bactérias. Em um caso (Ov. 16) houve, na região pilórica, acentuada necrose da túnica mucosa acompanhada de acentuado extravasamento de fibrina e invasão bacteriana; observaram-se, também, neste caso, infiltração leucocitária, acentuado edema da submucosa, tumefação, vacuolização miocelular, além de edema entre as fibras das musculares interna e externa.

Outras lesões histológicas, porém pouco significativas, foram encontradas. No tecido linfóide do baço foi observada discreta necrose com picnose e cariorrexia das células dos folículos, em uma área limitada, em um animal (Ov. 15).

No fígado houve, em todos os casos, com distribuição principalmente nas zonas central e intermediária, leve até leve/moderada tumefação de hepatócitos; em dois casos (Ov. 17, 18) observaram-se leve vacuolização, principalmente na zona central do lóbulo e discreta necrose incipiente de hepatócitos, aleatoriamente distribuída no lóbulo. Na glândula adrenal, verificaram-se congestão e pequenos focos de hemorragia (Ov. 15). No jejuno, houve discreta congestão da própria (Ov. 16) e, no cólon, necrose coagulativa com hemorragia focal na mucosa (Ov. 18).

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Nos experimentos efetuados com a brotação de *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e com as partes aéreas frescas de *B. megapotamica* var. *weirii* adulta sem inflorescência, foi verificado que as duas variedades, pela administração de doses únicas, provocaram, em ovinos, quadros tóxicos agudos semelhantes, em que as manifestações clínico-patológicas do trato digestivo predominaram. No entanto, houve grandes diferenças quanto ao grau da toxidez entre as duas variedades. A var. *weirii* foi cinco vezes mais tóxica que a var. *megapotamica*.

Embora os quadros clínico-patológicos causados pelas duas variedades tenham sido similares, pequenas diferenças devem ser destacadas. Entre as manifestações clínicas, a desidratação foi mais acentuada na intoxicação pela var. *weirii*; andar desequilibrado aconteceu, em três casos fatais, somente na intoxicação pela var. *weirii*, postura de "auto-auscultação" foi típica em todos os cinco casos fatais na intoxicação pela var. *weirii*, sendo observada em um único caso na intoxicação pela var. *megapotamica*; diarreia líquida aconteceu em três casos fatais na intoxicação pela var. *megapotamica* e em somente um caso na intoxicação pela var. *weirii*.

Os achados de necropsia foram mais acentuados na intoxicação pela var. *weirii*. Edema da parede do rúmen e retículo ocorreu em todos os cinco casos na intoxicação pela var. *weirii*, enquanto que na intoxicação pela var. *megapotamica* ocorreu em dois casos, no rúmen, e em

somente um caso, no retículo. Congestão difusa da mucosa do retículo foi observada nos cinco casos na intoxicação pela var. *weirii* e em dois casos na intoxicação pela var. *megapotamica*. Nítido desprendimento do epitélio da mucosa ocorreu em todos os casos na intoxicação pela var. *weirii* e somente em um caso na intoxicação pela var. *megapotamica*. (É importante lembrar que na intoxicação por *B. megapotamica*, o epitélio desprendia-se somente quando raspado, observando-se congestão e edema da própria, o que não é verificado na autólise). A congestão da mucosa do abomaso foi levemente mais acentuada na intoxicação pela var. *weirii*. Entretanto, equimoses no endocárdio, no ventrículo esquerdo, aconteceram exclusivamente na intoxicação pela var. *megapotamica*.

No referente às lesões histológicas foram observadas pequenas diferenças nos pré-estômagos e variações um pouco mais evidentes no abomaso e tecido linfóide. Nos pré-estômagos dos animais intoxicados pela var. *weirii*, com exceção do ovino 18, a lesão histológica foi menos nítida do que na intoxicação pela var. *megapotamica*. A proliferação e invasão bacteriana, além do desprendimento do epitélio e desnudamento do córion, acompanhavam, com elevada frequência, a maioria dos casos, na intoxicação pela var. *weirii*, provavelmente, porque na intoxicação por esta variedade o prazo decorrido entre a administração da planta e a morte do animal foi algumas horas mais prolongado do que na intoxicação pela var. *megapotamica*. Por outro lado, na intoxicação pela var. *weirii*, houve maior variação quanto à intensidade e incidência da necrose; enquanto na intoxicação por esta variedade foram vistas "necrose acompanhada de dissociação celular", "necrose dos estratos profundos" e "necrose maciça" num mesmo campo, ou em uma mesma área, havendo também porções em que o epitélio estava íntegro, na intoxicação pela var. *megapotamica* a necrose apresentava-se mais uniforme numa mesma área e/ou cavidade pro-ventricular, não sendo vistas áreas com epitélio íntegro nos cortes realizados. No abomaso a necrose do epitélio da mucosa ocorreu somente na intoxicação pela var. *weirii* (4 casos). Necrose no tecido linfóide foi observada com maior frequência na intoxicação pela var. *megapotamica* (4 casos) do que na intoxicação pela var. *weirii* (1 caso).

Os resultados obtidos na intoxicação por *B. megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* em ovinos são análogos aos verificados na intoxicação experimental por estas duas variedades de *B. megapotamica* em bovinos. Nessa espécie, *B. megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* provocaram quadros clínico-patológicos semelhantes, porém, também como sucede em ovinos, existem grandes diferenças no grau de toxidez entre as duas variedades. A var. *weirii* foi de três a quatro vezes mais tóxica para bovinos que a var. *megapotamica*. A dose letal para bovino na intoxicação pela var. *megapotamica* foi de 3 a 4g/kg e pela var. *weirii* foi de 1g/kg, assim sendo, para ovinos, a dose letal foi três a quatro vezes a dose letal para os bovinos com a var. *megapotamica*.

mica e de duas a três vezes a dose letal com a var. *weirii*. O prazo decorrido entre a administração da planta e a morte dos ovinos, na intoxicação por ambas variedades, foi algumas horas mais prolongada que nos bovinos. As manifestações clínico-patológicas, em bovinos, relacionaram-se ao trato digestivo, porém, verificou-se que houve pequenas diferenças quanto a intensidade entre as duas variedades. Os achados de necropsia foram muito semelhantes aos agora observados nos ovinos, porém, nos bovinos, não foram observadas congestão acentuada e/ou hemorragia da mucosa do abomaso. As principais lesões histológicas verificadas, nos bovinos, ocorreram, na intoxicação pela var. *megapotamica*, nos pré-estômagos, abomaso, fígado e tecido linfóide e na intoxicação pela var. *weirii*, nos pré-estômagos e em menor incidência no fígado e tecido linfóide. Nos ovinos, além das lesões dos pré-estômagos estarem presentes na intoxicação por ambas variedades, a necrose da mucosa do abomaso, aconteceu somente na intoxicação pela var. *weirii* e a necrose do tecido linfóide foi mais freqüente na intoxicação pela var. *megapotamica*. Os achados histopatológicos dos pré-estômagos, nos ovinos, foram similares aos verificados em bovinos. Embora a denominação "necrose dos estratos profundos" não tenha sido especificamente referida na intoxicação em bovinos, a descrição histopatológica revela que alterações muito semelhantes ocorreram, nos dois casos, na intoxicação pela var. *weirii*, em bovinos, em que as dosagens foram as mais elevadas. No abomaso dos bovinos a necrose das células epiteliais da mucosa ocorreu principalmente na intoxicação pela var. *megapotamica*, enquanto que nos ovinos, essa lesão só foi observada na intoxicação pela var. *weirii*. Por outro lado, a necrose das células parietais, verificada nos bovinos, não foi constatada nos ovinos. No fígado dos bovinos intoxicados por ambas as variedades de *B. megapotamica*, observaram-se necrose e lise das células hepáticas com variável presença de corpúsculo de choque no leito vascular, principalmente na zona intermediária do lóbulo. Alterações desta natureza somente foram encontradas no ovino 9, na intoxicação pela var. *megapotamica*, porém, em intensidade leve com distribuição focal e irregular no lóbulo. Na intoxicação por ambas as variedades em bovinos, ocorreu, no tecido linfóide, necrose com picnose e cariorrexia que variou de discreta até acentuada. Nos ovinos, a necrose do tecido linfóide foi geralmente discreta e afetou números variáveis de folículos, estando presente, na maioria dos casos, somente na intoxicação pela var. *megapotamica*.

Com relação à intoxicação por *B. coridifolia* em ovinos (Tokarnia & Döbereiner 1976), as alterações clínico-patológicas foram semelhantes às verificadas na intoxicação experimental por *B. megapotamica*. Todavia quanto aos achados de necropsia, é importante destacar que na intoxicação pelas duas variedades de *B. megapotamica*, em ovinos, a congestão e/ou hemorragia da mucosa do abomaso são bastante acentuadas, o que não é descrito na intoxicação por *B. coridifolia*. Histopatologicamente, no

referente ao abomaso e tecido linfóide, as lesões verificadas na intoxicação por *B. megapotamica* em ovinos, não foram descritas na intoxicação por *B. coridifolia*, nessa espécie animal (Tokarnia & Döbereiner 1976). No entanto, é importante realçar que na intoxicação por *B. megapotamica*, a necrose da mucosa do abomaso ocorreu somente na intoxicação pela var. *weirii* e a necrose do tecido linfóide ocorreu principalmente na intoxicação pela var. *megapotamica*. Deve-se ainda mencionar que necrose do tecido linfóide, em intensidade que variou de discreta até leve, também foi observada na intoxicação experimental por *B. coridifolia* em bovinos (Tokarnia & Döbereiner, dados não publicados apud Tokarnia et al. 1992a).

Kupchan et al. (1977) demonstraram a presença de significativa quantidade (0,02% da matéria seca) de bacarinóides (tricotecenos macrocíclicos), em *B. megapotamica*. Busam & Habermehl (1983) também constataram a presença de tricotecenos macrocíclicos, especialmente roridinas, em *B. coridifolia*.

Em geral, os tricotecenos são metabólitos de fungos do gênero *Fusarium*, *Myrothecium*, *Trichoderma*, *Trichothecium*, *Cephalosporium*, *Verticimonosporium* e *Stachybotrys*, sendo freqüentemente isolados de cereais e do solo (Smalley & Strong 1974; Ueno 1977, 1980, 1983a).

Os tricotecenos têm sido responsabilizados por importantes micotoxicoses ocorridas na Europa, Japão e Estados Unidos: a "aleucia tóxica alimentar", em humanos e animais, provocada, provavelmente, por T-2 e HT-2 (Rússia e Europa Central); "a doença do milho mofado" ou "doença hemorrágica", em animais de fazenda, produzida por T-2, HT-2 e diacetoxiscirpenol (Estados Unidos); a "intoxicação dos equinos por casca de feijão", produzida por T-2, HT-2 e neosalenol (Japão); os "problemas de vômito e rejeição ao alimento", em animais de fazenda, provocados por deoxinivalenol, nivalenol e zearalenone (Estados Unidos, Japão, Europa e outros países); e a "doença do mofo vermelho", em humanos e animais, produzida por nivalenol e deoxinivalenol (Japão); a "estaquibotriotoxicose" em equinos, bovinos, ovinos, suínos e humanos, produzida, provalmente, por satratoxina (Rússia, Hungria, Finlândia, França e outros países); e a "dendroquiotoxicose", em equinos e bovinos, provocada, possivelmente, por roridinas e verrucarinas (Rússia), (Ueno 1977, 1980, 1983a). Recentemente, os tricotecenos (T-2), segundo Marshall (1982) foram utilizados como "armas químicas" no sudeste asiático.

Estas micotoxinas são definidas, quimicamente, como substâncias constituídas por 15 átomos de carbono (sesquipertenos), caracterizada por uma estrutura com três anéis, um grupo epóxido nos carbonos 12 e 13 e uma dupla ligação entre os carbonos 9 e 10. Os átomos de carbonos 3, 4, 7, 8, 14 e 15 podem ser ocupados por íons hidrogênio, radicais hidroxila e acila, um epóxido, ou uma função macrocíclica. Em alguns grupos, o carbono 8 (C-8) é substituído por uma cetona (Ueno 1977, 1980, 1983b). Ueno (1980, 1983b) dividiu os tricotecenos em

quatro grupos. Grupo A: tricotecenos sem função cetona no C-8, tais como T-2, HT-2, T-2 tetraol, diacetoxiscirpenol, verrocarol, e neosolanol. Grupo B: tricotecenos com uma função cetona no C-8, tais como nivalenol, deoxinivalenol, fusarone-X, tricotecin. Grupo C: tricotecenos com um epóxido adicional entre C-7 e C-8 tal como crotocin. Grupo D: tricotecenos com uma função macrocíclica entre os C-4 e C-15, tais como roridinas, verrucarinas, satratoxina e os, recentemente descobertos, bacarinóides (Kupchan et al. 1977), miotoxina (Habermehl et al. 1983, 1985a, 1985b, Habermehl & Busam 1984), mirotixina e roritoxina (Jarvis et al. 1985a, 1986).

A origem dos tricotecenos em *B. megapotamica* e *B. coridifolia* ainda não está totalmente esclarecida. Os tricotecenos isolados de *B. megapotamica* são bacarinóides B-3, B-4, e B-5 e os de *B. coridifolia*, roridina A, D, e E (Jarvis et al. 1987b).

Jarvis et al. (1981) sugeriram, apesar da potente ação fitopatogênica dos tricotecenos macrocíclicos, que esses seriam absorvidos pela planta após sua produção por fungos no solo. Experimentos têm demonstrado que roridina e verrucarina aplicadas à *B. megapotamica*, são absorvidas pelas raízes e transformadas rapidamente em derivados 8 β -hidroxila, os bacarinóides (Jarvis et al. 1981). Segundo Habermehl et al. (1985a) a presença do fungo *Myrothecium verrucaria* produtor de tricotecenos, isolado do solo, associado às raízes de *B. coridifolia*, assim como também às altas quantidades de roridina e verrucarina presentes na planta (0,09% de matéria seca), conduziu-lhes a pensar nesta mesma hipótese.

Os bacarinóides diferem das roridinas pela presença de um oxigênio adicional no anel A, o que lhes confere, "in vivo", uma alta atividade antileucêmica (Jarvis et al. 1980, 1984, 1986, Kupchan et al. 1977).

Num recente levantamento, para verificar a presença de tricotecenos macrocíclicos em outras espécies de *Baccharis*, na América do Sul, foi comprovado que só *B. megapotamica* e *B. coridifolia* continham a micotoxina, e que *B. coridifolia* a possuía, em variáveis quantidades nas suas distintas estruturas, sendo que os mais altos níveis (> 4000 ppm) foram verificados nas sementes (Jarvis et al. 1991).

Em geral, todos os tricotecenos são altamente tóxicos para animais, possuindo também propriedades inseticidas, antifúngicas, antibacterianas, citotóxicas, citostáticas e fitotóxicas (Busby & Wogan 1981; Härril et al. 1962; Rüsck & Stähelin 1965; Smalley & Strong 1974; Ueno 1977, 1980, 1983b). Os tricotecenos exercem um potente efeito inibitório nas sínteses de proteínas e DNA, na célula eucariota (Busby & Wogan 1981, Liao et al. 1976, Smalley & Strong 1974, Ueno et al. 1968, 1969, 1973, Ueno 1977, 1980, 1983b).

Em estudos ultraestruturais, Terao (1983) observou uma depolimerização de polirribossomas livres ou associados a membranas, principalmente em células linfóides imaturas. Existem adicionalmente, algumas evidências de sua ação sobre as mitocôndrias, inibindo a respiração

celular (Pace 1983) e sobre as membranas celulares, promovendo a peroxidação de lipídios (Karppanen et al. 1989).

Os tricotecenos distinguem-se por sua ação tóxica radiomimética, caracterizada por necrose com picnose e cariorréxia das células com elevada atividade mitótica no tecido linfóide dos linfonodos, baço, timo e trato gastrointestinal, do tecido hematopoético e do epitélio gastrointestinal. A destruição dessas células resulta, segundo os tecidos afetados, principalmente quando os animais são submetidos a doses subletais, em leucopenia acompanhada de supressão da resposta imune, com subsequente aumento da susceptibilidade a infecções secundárias, em anemia e trombocitopenia associadas a hemorragias (subcutâneas, intramusculares, das serosas e mucosas) e úlceras no tubo digestivo e, quando submetidos a doses letais, em erosões com graves hemorragias no trato gastrointestinal. Grande parte dos tricotecenos são também irritantes da pele, provocando grave necrose do tegumento.

O grau de lesão tecidual, como também as manifestações tóxicas agudas ou crônicas, dependem do tipo de tricoteceno, da via de administração, da dose, do intervalo de exposição à toxina e da espécie animal envolvida, o que torna difícil estabelecer comparações. (Busby & Wogan 1981, Friend et al. 1983, Kellerman et al. 1988, Newberne & Rogers 1981, Oeiler et al. 1985, Schiefer 1985, Schneider et al. 1979, Smalley & Strong 1974, Terao 1983, Ueno 1983b, Vidal 1990).

Contudo, no que se refere especificamente aos tricotecenos macrocíclicos, o efeito tóxico dos bacarinóides foi estudado em camundongo, através de aplicações intragástricas fracionadas; a ação tóxica parece ser exercida no intestino, porém, embora em raros casos, também sobre o tecido linfóide do timo (Schiefer et al. 1989). Quanto à ação tóxica de roridinas em coelhos, dosagens únicas causaram alterações também no tubo digestivo, verificando-se acentuadas hemorragias na serosa e mucosa, com exudação fibrinosa, principalmente no cólon. Histopatologicamente, observaram-se necrose com cariorréxia e picnose, hemorragia da mucosa do trato gastrointestinal e necrose com cariorréxia e picnose em alguns folículos linfóides do baço; estas alterações foram muito similares às observadas na intoxicação experimental por *B. corifolia* em coelhos (Habermehl et al. 1985a).

Comparativamente, com relação à intoxicação experimental por *B. megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii*, o efeito tóxico é exercido, no coelho, de maneira similar ao de *Baccharis coridifolia*, principalmente no trato gastrointestinal, tecido linfóide e fígado (Tokarnia et al. 1992b). No referente aos ovinos, e também aos bovinos (Tokarnia et al. 1992a), a ação tóxica de ambas as variedades de *B. megapotamica* é exercida principalmente nos pré-estômagos, abomaso, fígado e tecido linfóide. As alterações histológicas, nas espécies animais referidas, foram sempre caracterizadas por necrose com picnose e cariorréxia dos elementos epiteliais ou linfocitários do tecido afetado, e portanto, correspondem às

descritas na intoxicação aguda por vários tipos de tricotecenos macrocêlicos e não macrocêlicos em diferentes espécies. (Busb & Wogan 1980, Terao 1983, Mirocha 1985, Shiefer 1985, Shiefer et al. 1986, 1989).

Sob a ação tóxica de verrucarinas e roridinas em ovinos e bovinos poucos estudos experimentais são conhecidos. Nos experimentos realizados com verrucarina A e roridina A, sob diferentes formas (administração oral fracionada de cultura de *M. verrucaria* e de verrucarina A crua contendo também roridinas e administração oral única de verrucarina A e roridina A puras), os sintomas clínicos e achados de necropsia, nessas duas espécies, foram semelhantes aos verificados na intoxicação experimental por *B. megapotamica* em ovinos e bovinos (Tokarnia et al. 1992). Infelizmente, os achados histopatológicos não foram descritos (Mortimer et al. 1971; Di Menna & Mortimer 1971). As manifestações clínicas verificadas em ovinos, por estes autores, foram anorexia, acentuada depressão, relutância em se movimentar, estacão com os membros afastados, poliúria, aumento da estratificação líquida do rúmen, respiração acelerada e ruidosa, decúbito e morte; em alguns casos houve, adicionalmente, timpanismo e diarreia. Os achados de necropsia mais importantes foram observados no tubo digestivo. Houve congestão nas papilas do rúmen e nas pregas do retículo; no omaso, necrose e hemorragia na crista das folhas; no abomaso, variáveis graus de hemorragia na submucosa, sendo, em alguns animais, acentuadas e extensas, principalmente nas dobras e na região pilórica. No intestino delgado as lesões foram pouco frequentes e confinadas a segmentos por toda sua extensão, com marcado edema e ocasionalmente hemorragia na submucosa. No intestino grosso a congestão e hemorragia variaram de intensidade, ocorrendo em áreas limitadas, especialmente no ceco e menos no cólon proximal. O fígado mostrou lobulação perceptível, o pulmão, congestão e equimoses no endocárdio do ventrículo esquerdo. Nas intoxicações por doses mais elevadas de verrucarina A e roridina A pura, o fígado mostrou nítido aspecto de noz-moscada, contudo, a lesão gastrointestinal foi mais acentuada na intoxicação por roridina A pura do que na intoxicação por verrucarina A pura, verrucarina crua e culturas de *M. verrucaria*. As manifestações clínicas em bovinos foram semelhantes às observadas em ovinos.

Sobre a ocorrência natural de mirotectiotoxicose, na Nova Zelândia e União Soviética e de estaquiobotriotoxicose na Europa e África do Sul, algumas suspeitas têm-se levantado.

Assim, segundo Martinovich et al. (1972), micotoxinas produzidas por *Myrothecium* sp. (verrucarinas e roridinas) isoladas dos solos de pastagens de *Pennisetum clandestinum*, "Kikuyu grass" (Di Menna & Mortimer 1971), provocam lesões semelhantes às produzidas na intoxicação por *P. clandestinum* em bovinos, durante o outono, no norte da Nova Zelândia (Cordes et al. 1969, Martinovich & Smith 1973, Smith & Martinovich 1973); esses autores sugerem, que estas micotoxinas, seriam responsá-

veis pela toxidez de *P. clandestinum*. Porém, não existem evidências patentes para tal suposição, uma vez que a população de fungos isolados desses solos é insuficiente para tornar essas pastagens tóxicas (Di Menna et al. 1973, Di Menna & Mortimer 1985). Além disso, na intoxicação por *P. clandestinum* as lesões são restritas ao tubo digestivo especialmente aos pré-estômagos (verifica-se necrose difusa com afastamento das células do epitélio, acantólise, afetando os estratos granuloso e espinhoso, associada à inflamação fibrino-purulenta, no rúmen, no retículo e, principalmente, no omaso), enquanto que os tricotecenos têm efeito radiomimético e, por conseguinte, produziram necrose também no tecido linfóide e epitélio intestinal (Newsholme et al. 1983).

Vertinskii et al. (1967) descreveram ainda, na extinta União Soviética, uma mortandade de ovinos, cujo quadro clínico-patológico foi similar ao reproduzido experimentalmente com cepas de *M. verrucaria* isoladas da forragem que servia de alimento a estes animais.

Quanto à estaquiobotriotoxicose, a doença foi descrita em alguns países da Europa e na África do Sul. É causada por um ou vários tricotecenos macrocêlicos, principalmente roridina E, verrucarina J, e satratoxina F, G e H entre outros metabólitos fúngicos (Eppley & Baley 1973; Schneider et al. 1979). A enfermidade foi relatada em equínos, bovinos, ovinos e suínos. O quadro clínico-patológico, na maioria das ocorrências, foi de evolução crônica, na forma típica; em geral, devido à marcada supressão da resposta imune, as infecções secundárias por bactérias têm um importante papel nesta forma da micotoxicose. Uma manifestação da doença, menos frequente, é a de evolução aguda, forma atípica, que se caracteriza por predominarem, no quadro clínico, sintomas de shock. Tanto na forma típica como na atípica os achados de necropsia são similares, caracterizando-se por graves hemorragias e necrose, particularmente no tecido subcutâneo, nos músculos esqueléticos, nas serosas, mucosas, parênquimas de alguns órgãos e tecido linfóide (Schneider et al. 1979, Szathmáry 1983). Somente as manifestações clínicas relatadas na forma atípica da estaquiobotriotoxicose foram bastante próximas das observadas na intoxicação experimental por *B. megapotamica* em ovinos como também em bovinos (Tokarnia et al. 1992a). Os sintomas e os achados de necropsia, na forma típica, e os achados de necropsia, na forma atípica, diferem dos observados nos experimentos com *B. megapotamica* tanto em ovinos como em bovinos (Tokarnia et al. 1992a), uma vez que graves hemorragias não fazem parte do quadro anatomopatológico da intoxicação pela referida planta. No entanto, é relevante destacar que a necrose do tecido linfóide do baço, linfonodos e do trato gastrointestinal, descritos em ambas formas da estaquiobotriotoxicose (Schneider et al. 1979), e os observados na intoxicação experimental em ovinos por *B. megapotamica*, são bastante semelhantes.

Ainda é oportuno fazer alguns comentários sobre os tricotecenos simples, ou seja, os que não têm uma função

macrofísica, especialmente T-2. Na América do Norte foram realizados alguns estudos sobre a ocorrência da intoxicação natural (Hsu et al. 1972) e intoxicação experimental em ruminantes (Kosuri et al. 1970, 1971, Mirocha 1983; Morehouse 1985, Osweiler et al. 1985, Pier 1981; Weaver et al. 1980). O efeito tóxico de T-2, foi bem descrito e revisado por Mirocha (1983), contudo, existem controvérsias, o que torna difícil estabelecer comparações. Os sintomas descritos em bovinos são caracterizados por rejeição à alimentação, inapetência, fezes moles, em alguns casos fezes com sangue, perda de peso, leucopenia e linfopenia (Osweiler et al. 1985, Pier et al. 1976 apud Mirocha 1983, Weaver et al. 1980). À necropsia observou-se desnudamento das papilas do rúmen, erosões e ulcerações na mucosa do rúmen, úlceras no estômago, congestão da mucosa intestinal e conteúdo fecal fluido (Pier et al. 1976 apud Mirocha 1983, Weaver et al. 1980). Histopatologicamente, verificou-se congestão da própria nos pré-estômagos e nos intestinos (Weaver et al. 1980). Atrofia do tecido linfóide dos folículos dos linfonodos mesentéricos e do baço foi verificada na intoxicação experimental por T-2, em ovinos (Friend et al. 1983). Por outro lado, também foram descritas acentuadas hemorragias gastrintestinais e no parênquima de outros órgãos, em um surto natural, em bovinos, ocorrido após prolongada ingestão de milho mofado, do qual foi isolado T-2 (Hsu et al. 1972); entretanto, não se conseguiu reproduzir esta condição patológica, experimentalmente, com esta toxina (Patterson et al. 1979, Pier 1981, Weaver et al. 1980). Segundo Mirocha (1983) esse quadro caracterizado por acentuadas hemorragias gastrintestinais e no parênquima de outros órgãos não é provocado por toxinas T-2 e sim pelas toxinas produzidas pelo *Stachybotrys atra*, fungo responsável pela estaquibotriotoxicose.

REFERÊNCIAS

- Aluja A.S. & Paasch L. 1973. Intoxicación de borregos com la planta *Helenium integrifolium*. Veterinária, México, 4(3):214-222.
- Barroso G.M. 1976. Compositae, subtribo Baccharidinae Hoffmann: estudo das espécies ocorrentes no Brasil. "Rodriguesia", Ano XXVIII, nº 40, Rio de Janeiro, Brasil.
- Banburg J.R. 1976. Chemical and biochemical studies of the trichothecene mycotoxins. In: Rodricks J.V. (ed.) Mycotoxins and other fungal related food problems. Advances in Chemistry, Series American Chemical Society, Washington, DC, vol. 149:144-162.
- Barros C.S.L., Metzendorf L.L., Santos M.N., Barros S.S. & Peixoto P.V. 1989. Intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* (Compositae) em ovinos. Pesq. Vet. Bras. 9(3/4):55-67.
- Busam L. & Habermehl G.G. 1983. Accumulation of mycotoxins by *Baccharis coridifolia*: A reason for livestock poisoning. Naturwissenschaften 69:392.
- Busby W.F. & Wogan G.N. 1981. Trichothecenes, p. 29-45. In: Shank R.C. (ed.) Mycotoxins and N-nitroso Compounds: Environmental Risks. Vol. II, CRC Press, Florida.
- Carrillo B.J., Corbellini C.N. & Viera F.J.B. 1983. Efecto tremogénico y estudio patológico de la intoxicación experimental con *Poa huercu* en ovinos. Revta Med. Vet., Argentina, 64(3):152-164.
- Carrillo B.J. & Worker N.A. 1967. Entoque seco: arteriosclerosis y calcificación metastásica de origen tóxico en animales a pastoreo. Revta Investes Agropec. INTA, serie 4, Patologia Animal, Argentina, 4(2):9-30.
- Chaulat J.H.F., Peixoto P.V. & Tokarnia C.H. 1990. Intoxicação experimental por *Sesaea brasiliensis* (Solanaeae) em bovinos, ovinos e caprinos. Pesq. Vet. Bras. 10(3/4):71-84.
- Cordes O.D., Coup M.B., Harris G.H., Davenport P.G. & Busch J. 1969. Acute ruminal indigestion, alkalosis and death of cattle grazing kikuyu grass. N.Z. Vet. J. 17(5):77-81.
- Di Menna M.E. & Mortimer P.H. 1971. Experimental myrotheciotoxicosis in sheep and calves. N.Z. Vet. J. 19(10):246-248.
- Di Menna M.E. & Mortimer P.H. 1985. Toxicogenic pithomyces and myrothecium species in pasture, p. 120-123. In: Lacey J. (ed.) Trichothecenes and other mycotoxins. Proceedings of International Mycotoxin Symposium, John Wiley & Sons Sydney, Australia.
- Di Menna M.E., Mortimer P.H. & Smith B.L. 1973. The incidence of the genus myrothecium in New Zealand pastures and its relation to animal disease. J. Gen. Microbiol. 79:81-87.
- Döbereiner J. & Tokarnia C.H. 1984. Intoxicação experimental por *Vernonia nudiflora* (Compositae) em bovinos e ovinos. Pesq. Vet. Bras. 4(1):5-10.
- Döbereiner J. & Tokarnia C.H. & Canella C.F.C. 1960. Intoxicação experimental pela "salsa" (*Ipomoea asarifolia* R. et Schult.) em ruminantes. Arqs Inst. Biol. Animal, Rio de J. 3:39-57.
- Doyle T.W. & Bradner, W.T. 1980. Trichothecenes, p. 43-79. In: Cassidy J.M. & Douros J.D. (ed.) Anticancer Agents based on Natural Products Model. Academic Press, New York.
- Dollahite J.W. & Allen T.J. 1962. Poisoning of cattle, sheep and goats with lobezla and centaureum species. Sthwest. Vet. 15:126-130.
- Eppley R.M. & Bailey W.J. 1973. 12,13 - Epoxy - 9 - trichothecenes as the probable mycotoxins responsible for stachybotryotoxicosis. Science 181:758-760.
- Espinoza B.A.E. 1980. Lesiones hepáticas microscópicas en ovinos causados por la ingestión de *Senecio erraticus*. Arch. Med. Vet., Chile, 12(2):279-280.
- Franzolin R.F. & Velloso L. 1986. *Leucaena leucocephala* (Lan.) de Wit em rações para ovinos. 2. Toxicidade. Rev. Soc. Bras. Zoot. 15(5):415-428.
- Friend S.C.E., Hancock H.B., Schiefer H.B. & Babiuk L.A. 1983. Experimental T-2 toxicosis in sheep. Can. J. Comp. Med. 47:291-297.
- Gava A., Peixoto P.V. & Tokarnia C.H. 1987. Intoxicação experimental por *Vernonia mollissima* (Compositae) em ovinos e bovinos. Pesq. Vet. Bras., 7(2):33-41.
- Habermehl G.G. & Busam L. 1984. Macrocyclische trichothecene aus *Baccharis coridifolia*, I. - Miotoxin B und C. zwei neue macrocyclische trichothecene aus *Baccharis coridifolia* DC. Liebigs Ann. Chem. 1746-1754.
- Habermehl G.G., Busam L., Heydel P., Mebs D., Tokarnia, C.H., Döbereiner J. & Spraul, M. 1985a. Macrocylic trichothecene: cause of livestock poisoning by the brazilian plant *Baccharis coridifolia*. Toxicon 23(5):731-745.
- Habermehl, G.G., Busam L. & Spraul, M. 1985b. Macrocyclische trichothecene aus *Baccharis coridifolia*, II. - Miotoxin D und Isomiotoxin D, zwei neue macrocyclische trichothecene aus *Baccharis coridifolia* DC. Liebigs Ann Chem., p. 633-639.
- Habermehl G.G., Busam L. & Stegemann J. 1983. Miotoxin-A: A novel trichothecene macrocylic from the brazilian plant *Baccharis coridifolia*. Z. Naturforsch. 39c:212-216.
- Härrli E., Loeffler W., Sigg H.P., Stähelin H., Stoll C.H., Tamm C.H. & Wiesinger D. 1962. Über die verucarina und roridina, eine Gruppe von cytostatisch hochwirksamen Antibiotica aus Myrothecium-Arten. Helv. Chem. Acta 45(98/99):839-853.
- Hitschfeld M.W. 1980. Intoxicación experimental por Huevil (*Vestia lycoides*): Lesiones histológicas y algunos cambios plasmáticos en ovinos. Arch. Med. Vet., Chile, 12(1):197-198.
- Hsu, I.C., Smalley E.B., Strong F.M., Ribelin, W.E. 1972. Identification of T-2 toxin in moldy corn associated with a lethal toxicosis in dairy cattle. Appl. Microbiol. 24(5):684-690.
- Jarvis B.B., Comezoglu S.N., Rao M.M. & Pena N.B. 1987a. Isolation of macrocylic trichothecenes from a large-scale extract of *Baccharis megapotamica*. J. Org. Chem. 52:45-46.
- Jarvis B.B., Lee Y.W., Comezoglu F.T., Comezoglu S.N. & Bean G.A.

- 1985a. Myrotoxins: A new class of macrocyclic trichothecenes. *Tetrahedron Lett.* 26(40):4859-4862.
- Jarvis B.B., Midiwo J.O., Bean G.A., Aboul-Nasr M.B. & Barros C.S. 1988. The mystery of trichothecene mycotoxins from Brazilian *Baccharis* species. *J. Natural Products* 51(4):736-744.
- Jarvis B.B., Midiwo J.O. & Mazzola E.P. 1984. Antileukemic compounds derived from the chemical modification of macrocyclic trichothecenes. 2. Derivatives of roridins A and H and verrucarins A and J. *J. Med. Chem.* 27:239-244.
- Jarvis B.B., Midiwo J.O., Tuthii D. & Bean G.A. 1981. Interaction between the antibiotic trichothecenes and the higher plant *Baccharis megapotamica*. *Science* 214:460-462.
- Jarvis B.B., Mokhtari-Rejali N., Schenkel E.P., Barros, C.S. & Matzenbacher N.I. 1991. Trichothecene mycotoxins from Brazilian *Baccharis* species. *Phytochemistry* 30(3):789-797.
- Jarvis B.B., Pavanassivam G. & Bean G.A. 1985b. Mycotoxin production from *Myrothecium* species, p. 221-231. In: Lacey J. (ed.). *Trichothecenes and other mycotoxins. Proceedings of International Mycotoxin Symposium.* Sydney, Australia: John Wiley & Sons.
- Jarvis B.B., Stahly G.P., Pavanassivam G. & Mazzola E.P. 1980. Antileukemic compounds derived from the chemical modification of macrocyclic trichothecenes. 1. Derivatives of verrucarins A, J. *J. Med. Chem.* 23:1054-1058.
- Jarvis B.B., Wells K.M., Lee Y.-W., Bean G.A., Kommedahl T., Barros C.S. & Barros S.S. 1987b. Macrocyclic trichothecenes mycotoxins in Brazilian species of *Baccharis*. *Phytopathology* 77(6):980-984.
- Jarvis B.B. & Yatawara C.S. 1986. Roritoxins, new macrocyclic trichothecenes from *Myrothecium roridium*. *J. Org. Chem.* 51:2906-2910.
- Karppanen E., Rizzo A., Saari L., Berg S. & Brostrom 1989. Investigation on trichothecene-stimulated lipid peroxidation and toxic effect of trichothecenes in animals. *Acta Vet. Scand.* 30:391-399.
- Kellerman T.S., Coetzer J.A.W. & Naudé T.W. 1988. Plant Poisoning and Mycotoxicoses of Livestock in Southern Africa. Oxford Univ. Press, p. 106-108.
- Kosuri N.R., Smalley E.B. & Nichols R.E. 1971. Toxicologic studies of *Fusarium tricinatum* (corda) Snyder et Hansen from moldy corn. *Am. J. Vet. Res.* 32(11):1843-1850.
- Kosuri N.R., Tallant W.H. & Nichols R.E. 1970. Response of cattle to mycotoxins of *Fusarium tricinatum* isolated from corn and fescue. *J. Am. Med. Assoc.* 157(7):938-940.
- Kupchan S.M., Streehman P.R., Jarvis B.B., Dailey R.G. & Sneden A.T. 1977. Isolation of potent new antileukemic trichothecenes from *Baccharis megapotamica*. *J. Org. Chem.* 42(26):4221-4225.
- Liao L.-L., Grollman A.P. & Horwitz S.B. 1976. Mechanism of action of the 12, 13-epoxytrichothecene, anguidine, an inhibitor of protein synthesis. *Bioch. Biophys. Acta* 454:273-284.
- Lignieres J. 1912. Arteriosclerosis epidémica en el ovino. *Revta Zootec.*, B. Aires, 4(37):1-7.
- López R., Martínez-Burnes J. & Vargas G. 1991. Intoxication by *Lobelia berlandieri* in ruminants, p. 56. In: Abstracts, XXIV World Veterinary Congress, 18-23 Aug., Rio de Janeiro, Brazil
- López T.A., Spinelli R. & Villar J.A. 1978. Efecto de la dosificación de *Cestrum parqui*, L'Herit, en ovinos y bovinos. *Gaceta Veterinaria, Argentina*, 40:642-650.
- Marshall, E. 1982. A cloudburst of yellow rain reports. *Science* 218:1202-1203.
- Martinovich D., Mortimer P.H. & Di Menna M.E. 1972. Similarities between so-called kikuyu poisoning of cattle and two experimental mycotoxicoses. *N. Z. Vet. J.* 20:57-58.
- Martinovich D. & Smith B. 1973. Kikuyu poisoning of cattle. 1. Clinical and pathological findings. *N. Z. Vet. J.* 21:55-63.
- Mirocha C.J. 1983. Effects of trichothecene mycotoxins on farm animals. p. 177-194. In: Ueno Y. (ed.) *Trichothecenes: chemical, biological and toxicological aspects.* Elsevier, Amsterdam.
- Morehouse L.G. 1985. Mycotoxins of Veterinary Importance in the United States, p. 383-410. In: Lacey J. (ed.) *Trichothecenes and other mycotoxins. Proceedings of International Mycotoxin Symposium.* Sydney, Australia: John Wiley & Sons.
- Mortimer P.H., Campbell J., Di Menna M.E. & White E.P. 1971. Experimental myrotheciotoxicosis and poisoning in ruminants by verruconina A and roridina A. *Res. Vet. Sci.* 12:508-515.
- Newberne P.M. & Rogers A.E. 1981. Animal toxicity of major environmental mycotoxins, p. 51-63. In: Shank R.C. (ed.) *Mycotoxins and N-nitroso Compounds: Environmental Risks.* Vol. I. CRC Press, Florida.
- Newsholme S.J., Kellerman T.S., Van Der Westhuizen G.C.A. & Soley J.T. 1983. Intoxication of cattle on kikuyu grass following army worm (*Spodoptera exempta*) invasion. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 50:157-167.
- Odrizola E. 1984. Fotosensibilización y queratoconjuntivitis en ruminantes por consumo de semillas de falsa visnaga (*Ammi majus*). *Veterinaria, Argentina*, 1(7):648-688.
- Oseiler G.D., Hook B.S. & Buening G.M. 1985. Aspects of *Fusarium mycotoxicosis* in livestock, p. 447-462. In: Lacey J. (ed.) *Trichothecenes and other Mycotoxins. Proceedings of the International Mycotoxin Symposium.* Sydney, Australia John Wiley & Sons.
- Pace J.G. 1983. Effect of T-2 mycotoxin on rat liver mitochondria electron transport system. *Toxicol* 21(5):675-680.
- Patterson D.S.P., Matthews J.G., Shreeve B.J., Roberts B.A., McDonald S.M. & Hayes W.A. 1979. The failure of trichothecene mycotoxins and whole cultures of *Fusarium tricinatum* to cause experimental haemorrhagic syndromes in cattle and pigs. *Vet. Rec.* 105:252-255.
- Pier A.C., Cysewski S.J., Richard J.L., Baetz A.L., Mitchell L. 1976. Experimental mycotoxicoses in calves with alfatoxin, ochratoxin, rubratoxin and T-2 toxin. *Proc. Ann. Mact. US Anim. Health Assoc.* 8:130-148.
- Pier A.C. 1981. Mycotoxins and animal health. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 25:185-243.
- Riet-Correa F., Riet-Correa I. & Bellagamba, C. 1975. Calcificación metastásica enzoótica ("enteque seco") en bovinos del Uruguay. *Veterinaria, Uruguay*, 12:15-23.
- Riet-Correa F., Schild A.L., Méndez M.C., Wasserman R. & Krook L. 1987. Enzootic calcosinosis in sheep caused by the ingestion of *Nierembergia veitchii* (Solanaceae). *Pesq. Vet. Bras.* 7(3):85-95.
- Rosen R.T. & Rosen J.D. 1982. Presence of *Fusarium* mycotoxins in a synthetic material in "Yellow Rain". Evidence for the use of chemical weapons in Laos. *Biomed. Mass Spectrometry* 9:443-50.
- Rosiles R.M. & Paasch L.H. 1982. Megalocytosis hepática en ovinos. *Veterinaria, Mexico*, 13(3):151-153.
- Ruager J. & Gimeno E.J. 1977. Entequ seco en equinos, caprinos y ovinos. *Gaceta Veterinaria, Argentina*, 39:597-599.
- Rüsch M.E. & Stähelin H. 1965. Über einige biologische Wirkungen des Cytostaticum verrucarina A. *Arzneim.-Forsch.* 15:893-897.
- Schiefer H.B. 1985. Dynamics of experimental trichothecene mycotoxicosis, p. 433-439. In: Lacey J. (ed.) *Trichothecenes and other Mycotoxins. Proceedings of International Mycotoxin Symposium.* Sydney, Australia John Wiley & Sons.
- Schiefer H.B. 1988. The differential diagnosis. Are there natural explanations for what is called "Yellow Rain" and its alleged? *Comments Toxicology* 2:51-62.
- Schiefer H.B., Hancock D.S. & Bhatti A.R. 1986. Systemic effects of topically applied trichothecenes. I. Comparative study of various trichothecenes in mice. *J. Vet. Med. A* 33:373-383.
- Schiefer H.B., Hancock D.S. & Jarvis B.B. 1989. Toxicology of novel macrocyclic trichothecenes, Baccharinoid B4, Myrotoxin, and Roritoxin B.J. *Vet. Med. A* 36:152-160.
- Schneider D.J., Marasas W.F.O., Dale Kuys J.C., Kriek N.P.J. & Schalkwyk G.C. 1979. A field out-break of suspected stachybotryotoxicosis in sheep. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 50(2):73-81.
- Smalley E. & Strong F.M. 1974. Toxic trichothecenes, p. 199-228. In: Prurchase I.F.H. (ed.) *Mycotoxins.* Elsevier, Amsterdam.
- Smith B. & Martinovich D. 1973. Kikuyu poisoning of cattle. 2. Epizootiological aspects. *N. Z. Vet. J.* 21:85-89.
- Szathmáry I.C. 1983. Trichothecenes toxicoses and natural occurrence in Hungary. p. 229-249. In: Ueno Y. (ed.) *Trichothecenes: chemical, biological and toxicological aspects.* Elsevier, Amsterdam.
- Terao K. 1983. The target organella of trichothecenes in rodents and poultry, p. 147-162. In: Ueno Y. (ed.) *Trichothecenes: chemical, biological and toxicological aspects.* Elsevier, Amsterdam.

- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Canella C.F.C. 1960. Estudo experimental sobre a toxidez do "canudo" (*Ipomoea fistulosa*) em ruminantes. Arqs Inst. Biol. Animal., Rio de J. 3:59-71.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1976. Intoxicação experimental em ovinos por "mio-mio", *Baccharis coridifolia*. Pesq. Agropec. Bras. Sér. Vet. 11:19-26.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1983. Intoxicação experimental por *Vernonia squarrosa* (Compositae) em ovinos e bovinos. Pesq. Vet. Bras. 3(2):45-52.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Peixoto, P.V., 1985. Intoxicação experimental por *Conium maculatum* (Umbelliferae) em bovinos e ovinos. Pesq. Vet. Bras. 5(1):15-25.
- Tokarnia C.H., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 1986. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em ovinos. Pesq. Vet. Bras. 6(4):121-131.
- Tokarnia C.H., Peixoto P.V., Gava A. & Barros C.S.L. 1992a. Intoxicação experimental por *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* (Compositae) em bovinos. Pesq. Vet. Bras. 12(1/2):19-31.
- Tokarnia C.H., Peixoto P.V., Gava A. & Döbereiner J. 1992b. Intoxicação experimental por *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* em coelhos. Pesq. Vet. Bras. 12(3/4). (No prelo)
- Ueno Y. 1977. Trichothecenes: Overview Address, p. 179-207. In: Rodricks J.V. (ed.) Hesseltine in Human and Animal Health. Pathotox Publ. Illinois.
- Ueno Y. 1983a. Historical background of trichothenes problems, p. 1-6. In: Ueno Y. (ed.). Trichothecenes: Chemical Biological and Toxicological Aspects. Elsevier, Amsterdam.
- Ueno Y. 1983b. General Toxicology, p. 135-146. In: Ueno Y. (ed.) Trichothecenes: Chemical, Biological and toxicological Aspects. Elsevier, Amsterdam.
- Ueno Y., Hosoya M. & Ishikawa Y. 1969. Inhibitory effects of mycotoxins on the protein synthesis in rabbit reticulocytes. J. Biochem. 66(3):419-422.
- Ueno Y., Hosaya M., Morita Y., Ueno I. & Tatsuno T. 1968. Inhibition of the protein synthesis in rabbit reticulocyte by Nivelanol, a toxic principle isolated from *Fusarium nivale*-growing rice. J. Biochem. 64(4):479-485.
- Ueno Y., Nakajima M., Sakai K., Ishii K., Sato N. & Shimada N. 1973. Comparative toxicology of trichothecene Mycotoxins: inhibition of protein synthesis in animal cells. J. Biochem. 74(2):285-296.
- Ueno Y. 1980. Trichothecene mycotoxins mycology, chemistry and toxicology. Adv. Nat. Sci. 3:301-353.
- Vertinskii K.I., Dzhilavyn, K.H.A. & Koroleva, V.P. 1967. A disease of sheep caused by fungus *Myrothecium verrucaria*. Vet. Bull. 39(2):97, abst 554.
- Vidal D.R. 1990. Propriétés immunosuppressives des mycotoxines du groupe des trichothécènes. Bull. Inst. Pasteur 88:159-192.
- Watson S.A., Mirocha, C.J. & Hayes, A.W. 1984. Analysis for trichothecenes in samples from Southeast Asia associated with "Yellow Rain". Fundam. Appl. Toxicol. 4:700-717.
- Weaver G.A., Kurtz H.J., Mirocha C.J., Bates F.Y., Behrens J.C., Robinson T.S. & Swanson S.P. 1980. The failure of purified T-2 mycotoxin to produce hemorrhaging in dairy cattle. Can. Vet. J. 21:210-213.
- Zambrano M.S., Riet-Correa F., Schild A.L. & Méndez M.C. 1985. Intoxicação por *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum*: evolução e reversibilidade das lesões em bovinos, e susceptibilidade de ovinos, coelhos, cobaias e ratos. Pesq. Vet. Bras. 5(4):133-141.

ENZOOTIC CALCINOSIS IN SHEEP. EXPERIMENTAL REPRODUCTION WITH *Nierembergia veitchii* (Solanaceae)¹

FRANKLIN RIET-CORREA², MARIA C. MÉNDEZ², ANA L. SCHILD² e
CARLOS ALBERTO PETIZ³

SINOPSE.- Riet-Correa F., Schild A.L., Méndez M.C. & Petiz C.A. 1992. [Calcinose enzoótica em ovinos. Reprodução experimental com *Nierembergia veitchii* (Solanaceae).] Enzoootic calcinosis in sheep. Experimental reproduction with *Nierembergia veitchii* (Solanaceae). *Pesquisa Veterinária Brasileira* 13(1/2):21-24. Laboratório Regional de Diagnóstico, Fac. Veterinária, UFPel, Pelotas, RS 96100-000, Brazil.

Calcinose enzoótica foi reproduzida experimentalmente em ovinos mediante a administração de *Nierembergia veitchii* dessecada, misturada a 50% na ração durante 21 dias, e a 10% durante 49 dias. Os ovinos que ingeriram alimentação com 50% da planta perderam peso e os que foram alimentados com 10% da planta tiveram menores ganhos de peso que os controles. Nos 2 grupos tratados houve diminuição do consumo de ração, hipercalcemia e hiperfosfatemia. As alterações patológicas caracterizaram-se por: calcificação dos tecidos moles, mais marcada no grupo que ingeriu *N. veitchii* a 50%; hiperplasia das células parafoliculares da tireóide; atrofia das paratireóides e osteopetrose. *Nierembergia veitchii*, que contém um princípio ativo de ação similar ao calcitriol, é aproximadamente 78 vezes menos tóxica que *Solanum malacoxylon*.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Ovinos, *Nierembergia veitchii*, plantas calcinogênicas, intoxicação por planta, calcinose enzoótica, calcificação dos tecidos moles.

ABSTRACT.- Enzoootic calcinosis was reproduced in sheep by the administration of *Nierembergia veitchii* mixed with food at a concentration of 50% for 21 days and at 10% level for 49 days. At a concentration of 50% *N. veitchii* produced loss of body weight, and at 10% lower body weight gains than the control animals. Food consumption was decreased and hypercalcemia and hyperphosphatemia were evident in both groups. Pathological findings included: soft tissue calcification, more severe in those animals that received *N. veitchii* at 50%; hyperplasia of thyroid C cells; atrophy of the parathyroids and osteopetrosis. *Nierembergia veitchii*, which contains a calcitriol-like substance, is approximately 78 times less toxic than *Solanum malacoxylon*.

INDEX TERMS: Sheep, *Nierembergia veitchii*, calcinogenic plant, plant poisoning, enzoootic calcinosis, soft tissue calcification.

INTRODUCTION

Nierembergia veitchii has been considered the cause of enzoootic calcinosis in sheep in southern Brazil. The disease is characterized by soft tissue calcification, osteopetrosis, osteonecrosis, hypercalcemia,

hypercalcitoninism and hypoparathyroidism (Riet-Correa et al. 1987). Similar lesions were reproduced experimentally in rabbits fed with food containing 50% of dry *N. veitchii* (Riet-Correa et al. 1981).

The objective of this study was to reproduce the disease in sheep in order to elucidate some etiologic and epidemiologic aspects of the intoxication.

MATERIAL AND METHODS

Three groups, each with 3 Corriedale wethers 1 to 2 years old, were used in the experiment. The wethers were from an area free of calcinogenic plants and where enzoootic calcinosis had not been diagnosed.

N. veitchii was collected weekly, dried in the shade, ground and mixed with a commercial ration for sheep.

All the animals were fed 1.5 kg of food daily. In one group (N.v. 50) the animals were fed with a mixture containing 50% of dry *N. veitchii* and 50% of ration. The second group (N.v. 10) received 10% of dried *N. veitchii* and 90% of ration. The control group (N.v. 0) received only commercial ration.

Blood samples were collected from the jugular vein daily during the first five days of the experiment, and twice a week from the second week until the end of the experiment.

Serum calcium and phosphorus were determined by the methods of Ferro and Ham modified and Basques and Lustosa, respectively, using commercial kits (Labtest^(R)). Serum magnesium was calculated colorimetrically with a commercial kit (Merckotest^(R)).

¹ Accepted for publication on September 30, 1992.

This work was supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS) and by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

² Laboratório Regional de Diagnóstico, Faculdade de Veterinária, UFPel, 96100-000 Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil. Fellowship holder from CNPq.

³ Instituto de Química, UFPel, 96100-000 Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil.

Sheep of the N.v. 50 group were slaughtered by exsanguination at 21 days and those of the N.v. 10 and N.v. 0 groups at 49 days after beginning of the experiment.

Soft tissues were fixed in 10% formalin, embedded in paraffin, sectioned at 6 μ m and stained with hematoxylin and eosin (H&E). Two mm sections were excised mid-sagittally from the proximal femur epiphysis-metaphysis and transversely from the mid-diaphysis of these bones. The slices were fixed in 10% formalin and demineralized under vacuum in a solution of formic acid and sodium citrate. Paraffin embedded sections of bones were cut at 6 μ m and stained with H&E.

Quantitative morphometry of the parathyroid glands was done by projecting medium-high magnification color slides of the glands on a paper with 50 rows of 40 dots equally spaced. Cytoplasmic and nuclear "hits" were scored for each row and the cytoplasm to nucleus ratio was recorded. The $X \pm$ s.e.m. of the 50 rows was then calculated.

RESULTS

Weight and food consumption

Data related to food consumption, *N. veitchii* consumption, and weight variation are shown in Table 1.

Clinical pathology

The serum calcium and phosphorus levels are shown in Fig. 1 and 2. Serum magnesium levels were similar in the 3 groups.

Table 1. Weight variations, food and *Nierembergia veitchii* consumption in the experimental sheep

Group	Mean weight (kg)			Mean daily food consumption		Mean <i>N. veitchii</i> consumed (g/kg body weight)
	Initial	21 days	49 days	21 days	49 days	
N.v. 50	36	34.467	—	1.333*	—	388.791
N.v. 10	34.567	35.717	39.2	1.219	1.135**	160.890
N.v. 0	34.2	36.9	42.26	1.447	1.447	Nil

* Lower than the control group ($P < 0,01$).

** Lower than the control group ($P < 0,001$).

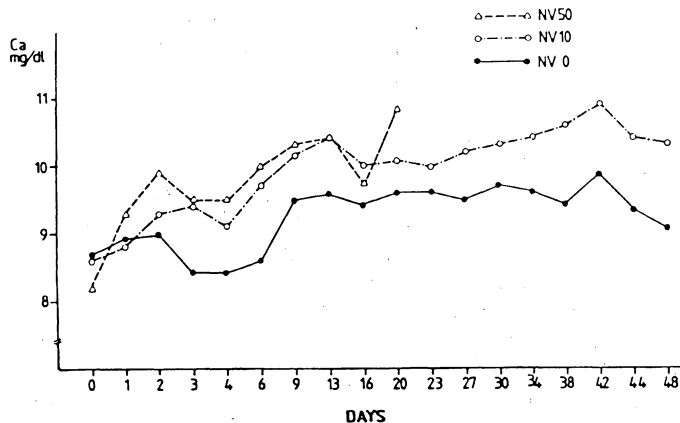


Fig. 1. Daily means of serum calcium in sheep fed *Nierembergia veitchii* mixed with food at 50% (N.v. 50) and 10% (N.v. 10), and in control sheep (N.v. 0).

Macroscopic examinations

Group N.v. 50. The 3 wethers showed mineralization of the aorta. The surface of the intima was rough and covered by mineralized plaques of irregular shape and size. In two animals mineralization was more severe in the abdominal than in the thoracic aorta; in one wether the aortic lesions were homogeneous throughout the whole length (Fig. 3). Mineralization was also observed in carotid, iliac and mesenteric arteries. In the kidneys of one sheep, a white line of mineralization was observed in the medulla. Two wethers showed small whitish areas of mineralization in the bicuspid and left aortic valves. Jugular veins and connective tissue surrounding them were severely calcified in the area where venipuncture was done.

Group N.v. 10. The aorta was mineralized in all 3 animals. The lesions were less severe than in the N.v. 50 group. In two wethers mineralization was localized exclusively in the abdominal aorta. In the same 3 sheep the kidneys and jugular veins showed lesions comparable to the ones described in the N.v. 50 group.

Group N.v. 0. No lesions were observed.

Microscopic examinations

Blood vessels. Arterial lesions were similar in groups N.v. 50 and N.v. 10. Elastic fibers were swollen, eosinophilic and fragmented. Deposits of calcium salts were evident in the degenerated fibers. Severely calcified elastic fibers ended in a completely calcified plaque, where collagenous fibers and ground substance were also calcified (Fig. 4). Proliferation of connective tissue around the calcified areas was observed rarely. Jugular veins and elastic fibers of connective tissue in the area of previous venipuncture were severely calcified.

Heart. The 3 wethers of N.v. 50 group had lesions in the bicuspid and left aortic valves similar to those described in arteries. Coronary arteries had subendothelial proliferation of connective tissue and degeneration and calcification of elastic fibers.

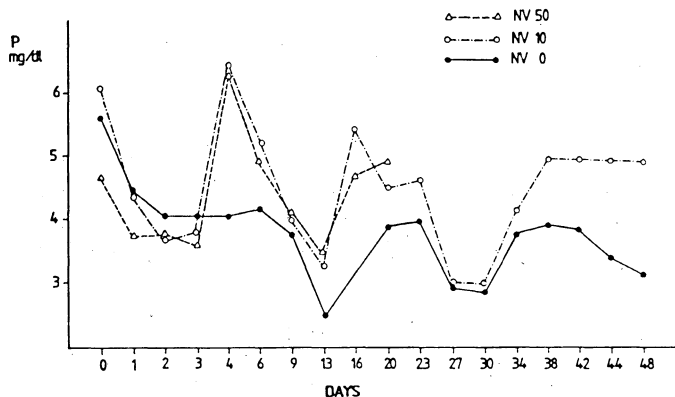


Fig. 2. Daily means of serum phosphorus in sheep fed *Nierembergia veitchii* mixed with food at 50% (N.v. 50) and 10% (N.v. 10), and in control sheep (N.v. 0).

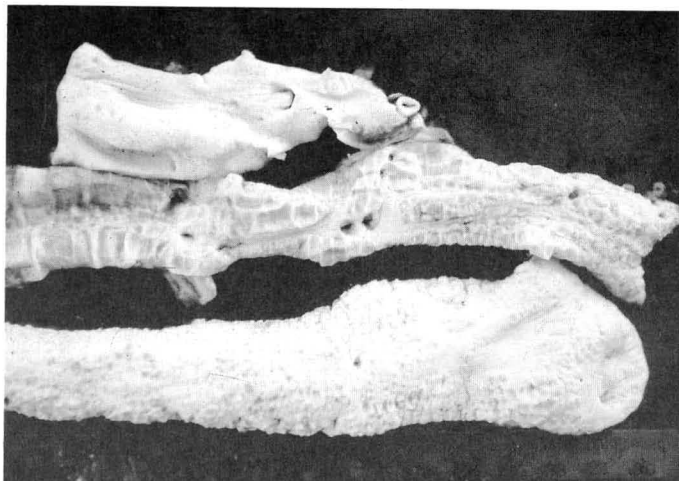


Fig. 3. Sheep fed with 50% *Nierembergia veitchii* for 21 days. Intima of the aorta covered by mineralized plaques of irregular shape and size throughout the whole length.

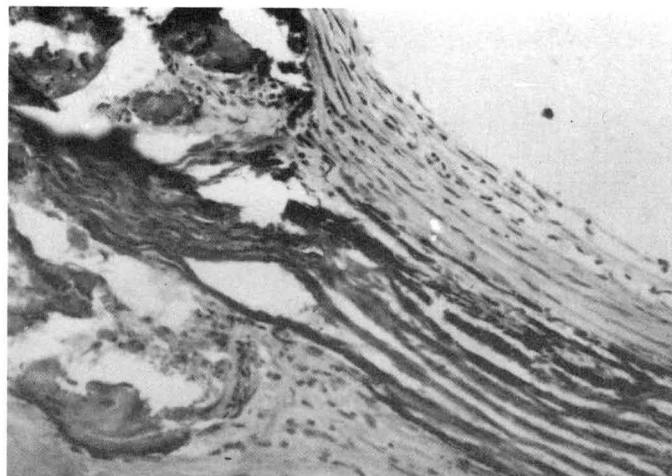


Fig. 4. Sheep fed with 50% *Nierembergia veitchii* for 21 days. Severe calcification of elastic fibers in the aortic wall ended in a completely calcified plaque. HE, obj. 5.

Lungs. Only wethers from the N.v. 50 group had lung lesions. Two of three showed degeneration and calcification of the bronchial cartilage and peribronchial muscle.

Kidneys. Degeneration and rupture of the basal membrane, calcification of the interstitial tissue, calcium deposits in some epithelial cells and calcium casts in the tubules were observed in the medulla of all animals in groups N.v. 50 and N.v. 10.

Thyroids. Two animals from the N.v. 50 group and one of the N.v. 10 group had areas of C cells hyperplasia. The cells appeared as adenomatous proliferation or in multiple layers around the follicles.

Parathyroids. Results of quantitative morphometry from the area of the medial section in parathyroids of sheep from groups N.v. 10 and N.v. 50 are presented in Table 2. These results showed a decrease of the cytoplasm/nucleus ratio due to a dark chief cell predominance which represents a parathyroid cell atrophy.

Bones. In wethers of the N.v. 50 and N.v. 10 groups basophilic lines with loss of birefringency were observed

at the surfaces of osteonic and trabecular bone. These lines, probably related to the production of abnormal osteoid tissue by osteoblasts, were more frequent in animals of the N.v. 50 than those of the N.v. 10 group. Wethers from the N.v. 10 group had a discrete osteopetrosis, characterized by enlargement and confluence of trabeculae in the metaphysis and epiphysis. Rare areas of osteonecrosis, characterized by dead osteocytes with empty lacunae, were observed in the center of the enlarged trabeculae.

In the articular cartilage in wethers of group N.v. 10 and N.v. 50 there was very poor differentiation into vesicular cartilage and a layer of bone, forming the proximal terminal plate, was attached directly to the cartilage. Such plate was thicker in wethers of the N.v. 10 group than in those of the N.v. 50 group. In the control sheep the articular cartilage showed normal differentiation; a thin zone of vesicular cartilage was present and the vascular penetration of the vesicular cells was active, with normal formation of epiphyseal trabeculae.

In wethers of the N.v. 10 group the epiphyseal cartilage was thinner than in the controls, nearly half of the plate was occupied by resting cartilage, differentiation into vesicular cartilage was poor, penetration of blood vessels into poorly differentiated vesicular cartilage was irregular, and in the secondary spongiosa very thick transverse trabeculae were observed. In wethers of the N.v. 50 group the epiphyseal plate was narrow and constituted mainly by resting cartilage, with a poorly defined zone of columnar cartilage and a very narrow zone of vesicular cartilage. There was virtually no primary spongiosa and the trabeculae of the secondary spongiosa were almost attached directly to the plate. In the control group the epiphyseal plate was normal with a thin layer of resting cartilage and a clear conversion into columnar and vesicular cartilage. Penetration of the vesicular cartilage by blood vessels in the primary

Table 2. *Cytoplasm/nucleus ratio of parathyroids in the experimental sheep*

Group	Wether n ^o	Cytoplasm/nucleus ratio (X ± Sx)
N.v. 50	1	3.04 ± 0.22
	2	2.41 ± 0.15
	3	2.02 ± 0.11
N.v. 10	4	3.59 ± 0.22
	5	2.18 ± 0.21
	6	ND ^a
N.v. 0	7	5.13 ± 0.46
	8	5.21 ± 0.42
	9	3.35 ± 0.18

^a Not done; the parathyroid was not found in this animal.

spongiosa and formation of methaphyseal trabeculae were normal.

DISCUSSION

The experimental reproduction of enzootic calcinosis in sheep demonstrated that *N. veitchii* is responsible for the disease in southern Brazil.

Clinical signs observed were loss of body weight in the N.v. 50 group and decreased weight gains in N.v. 10 group, and also decreased feed consumption in both groups. The severe emaciation and stiffness of movements observed in field cases (Riet-Correa et al. 1987) were not evident in the experimental animals. This suggests that in spontaneous outbreaks, in which the incidence of the disease varies between 1% and 80% (Riet-Correa et al. 1987), economic losses related to meat and probably wool production, occur also in animals without detectable clinical signs.

N. veitchii produced a constant hypercalcemia within 48 hours in the N.v. 10 and N.v. 50 groups. Similar hypercalcemia occurred in field cases during the period of *N. veitchii* consumption (Riet-Correa et al. 1987). Phosphorus serum levels were increased after 5 days in both groups that received *N. veitchii*. Hyperphosphatemia was not constant in field cases (Riet-Correa et al. 1987).

Macroscopic and histologic lesions were similar to those described in enzootic calcinosis in sheep in southern Brazil (Riet-Correa et al. 1987), and to the pathology produced by other calcinogenic plants and cholecalciferol intoxication (Carrillo & Worker 1967, Chineme et al. 1976, Krook et al. 1975, Libiseller et al. 1976, Simensen et al. 1978).

Riet-Correa et al. (1987) demonstrated that *N. veitchii* contains vitamin D-like activity since the addition of the plant to a chicken rachinogenic diet stimulated calcium absorption and increased the amount of calcium binding proteins synthesized by the duodenal mucosa. In the same series of experiments a small quantity of calcitriol (1,25(OH)₂D₃) – like substance was demonstrated.

No calcifications were observed in ligaments, tendons or interlobular septae of the lungs, which are common in spontaneous enzootic calcinosis (Riet-Correa et al. 1987). A longer consumption period of *N. veitchii* is probably required to induce these lesions.

Hyperplasia of thyroid C cells observed in 3 sheep, a morphologic evidence of hypercalcitoninism, would be a consequence of hypercalcemia. Atrophy of parathyroid cells, more marked in the N.v. 50 group, is a morphologic evidence of hypoparathyroidism. This could be a consequence of hypercalcemia or due to the direct effect of the *N. veitchii* active principle on the gland.

The amount of *N. veitchii* used to reproduce the disease was higher than the amounts necessary to induce

calcinosis with *Solanum malacoxylon* and *Cestrum diurnum*, both plants containing calcitriol-like substances (Wasserman 1978). It is possible to induce severe calcinosis and death in sheep with doses of 5 g per kg body weight of *S. malacoxylon* (Camberos & Davis 1969). This amount is approximately 78 times smaller than that of *N. veitchii* used in this experiment. *Cestrum diurnum* is apparently 10 times less potent than *S. malacoxylon* (Wasserman 1978). *Trisetum flavescens*, a calcinogenic plant with a calcitriol-like substance (Rambeck & Zucker 1982) appears to be less potent than *N. veitchii*. In order to induce severe calcinosis in sheep it was necessary to mix *Trisetum flavescens* in the food to a level of 50% for 154 days (Simon et al. 1978).

The high doses of *N. veitchii* necessary to induce calcinosis are consistent with the fact that the disease occurs spontaneously only in fields where the plant occurs in large quantities (Riet-Correa et al. 1987).

REFERENCES

- Camberos R.H. & Davis G.K. 1969. Acción de *Solanum malacoxylon* sobre balance mineral en ovinos. *Gazeta Veterinaria* (Argentina) 31:466-474.
- Carrillo B.J. & Worker N.A. 1967. Entequ seco: arteriosclerosis y calcificación metastásica de origen tóxico en animales a pastoreo. *Revta Investnes Agropecuárias INTA, B. Aires, Série 4, Patologia Animal*, 4:9-30.
- Chineme C.N., Krook L. & Pond W.G. 1976. Bone pathology in hypervitaminosis D. An experimental study in young pigs. *Cornell Vet.* 66:387-412.
- Krook L., Wasserman R.H., McEntee K., Brokken T.D. & Teigland M.B. 1975. *Cestrum diurnum* poisoning in Florida cattle. *Cornell Vet.* 65:557-575.
- Libiseller R., Glawischning E., Köhler H. & Swoboda R. 1976. Zur Kalzinose der Rinder in Österreich III. Experimentelle Auslösung einer Kalzinose bei Schafen und Kaninchen durch grünen Goldhafer (*Trisetum flavescens*) aus dem Pannonischen Klimagebiet. *Zbl. Vet. Med.* 23:1-30.
- Riet-Correa F., Méndez M.C., Schild A.L., Santos E.C. & Scarsi R.M. 1981. Experimentos em coelhos sugerem *Nierembergia veitchii* como causa de calcinose enzoótica em ovinos. *Pesq. Agropec. Bras.* 16:727-732.
- Riet-Correa F., Schild A.L., Méndez M.C., Wasserman R. & Krook L. 1987. Enzootic calcinosis in sheep caused by the ingestion of *Nierembergia veitchii* (Solanaceae). *Pesq. Vet. Bras.* 7:85-95.
- Rambeck W.A. & Zucker H. 1982. Vitamin D-artige Aktivitäten in calcinogenen Pflanzen. *Zbl. Vet. Med. A.* 29:289-296.
- Simensen M.G., Hänichen T. & Dämrich K. 1978. Hypervitaminosis D in sheep. An experimental study. *Acta Vet. Scand.* 19:588-600.
- Simon U., Daniel P., Hänichen T. & Dirksen G. 1978. Über eine enzootische Kalzinose beim Rind. XI. Untersuchungen über den Einfluss unterschiedlich hoher Goldhaferanteile im Grünfutter auf Gewebsverkalkungen bei Schafen. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 85:345-380.
- Wasserman R.H. 1978. The nature and mechanism of action of the calcinogenic principle of *Solanum malacoxylon* and *Cestrum diurnum* and a comment on *Trisetum flavescens*, p. 545-553. In: Keeler R.F., Van Kampen K.R. & James L.F. (ed.) *Effect of Toxic Plants on Livestock*. Academic Press, London.

INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA POR *Amaranthus spinosus* (Amaranthaceae) EM BOVINOS¹

RICARDO A. LEMOS², CLAUDIO S.L. BARROS³, MÔNICA S. SALLES³, SEVERO S. BARROS⁴e PAULO V. PEIXOTO³

ABSTRACT.- Lemos R.A., Barros C.S.L., Salles M.S., Barros S.S. & Peixoto P.V. 1993. [Naturally occurring *Amaranthus spinosus* (Amaranthaceae) poisoning in cattle.] Intoxicação espontânea por *Amaranthus spinosus* (Amaranthaceae) em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 13(1/2):25-34. Depto Patologia, Univ. Fed. Sta Maria, 97119-900 Santa Maria, RS, Brazil.

Cases of spontaneous poisoning by *Amaranthus spinosus* in cattle are described. The disease occurred in late summer during a severe drought. The clinical signs appeared 30 days after 35 adult cows and 20 yearling calves were introduced into a 15 ha maize plantation heavily infested by *Amaranthus spinosus*. Eleven cows and 8 calves showed clinical signs; all but one calf died within 3-7 days. Clinical signs were depression, anorexia, marked weight loss, foul-smelling diarrhea occasionally tinged with blood, and subcutaneous oedema of the dependent parts. Subacute cases showed a distended abdomen, were reluctant to stand and walked with difficulty. Sloughing of the hooves occurred in some animals. The main post-mortem findings in 5 bovines consisted of moderately pale and swollen kidneys, perirenal oedema and varying degrees of oedema in several tissues and cavities. In some cases petechiae and suffusions were associated with the subcutaneous oedema. Changes in the mucosa of the digestive system included necrotic glossitis, oesophagitis and pharyngitis, abomasal hemorrhages and button-like ulcerations in the large intestine. The contents of ileum, colon and rectum were blood stained. Hemorrhagic diathesis was apparent by the presence of intra-abdominal haematomas. Histologically there was marked tubular nephrosis associated with epithelial regeneration and hyalin intra-tubular casts. The mucosal lesions consisted of large necrotic areas in the epithelium which extended into the *lamina propria* and were associated with inflammatory reaction with massive infiltrations of mastocytes. The omasal mucosa had selective necrosis of the basal layer cells. The diagnosis was based upon epidemiological and clinical data, post-mortem findings and histopathology. The morphology and pathogenesis of the lesions are discussed and compared with other reported cases of *Amaranthus* spp poisoning and other nephrotoxicoses. It is suggested that renal failure was the primary lesion which triggered the other changes.

INDEX TERMS: Poisonous plants, plant poisoning, nephrotoxicosis, *Amaranthus spinosus*, Amaranthaceae, cattle, pathology.

SINOPSE.- É descrita a ocorrência de casos de intoxicação espontânea por *Amaranthus spinosus* em bovinos. A doença ocorreu ao final do verão, durante um período de forte estiagem. Os sinais clínicos iniciaram-se 30 dias após a introdução de 35 vacas adultas e 20 terneiros de sobreano numa invernação de 15 hectares. Adoeceram 11 vacas e 8 terneiros. Destes, morreram as 11 vacas e 7 terneiros, após um curso clínico de 3 a 7 dias, caracterizado por depressão, anorexia, perda de peso acentuada, diarreia malcheirosa, ocasionalmente hemorrágica, e edemas subcutâneos de declive. Animais com evolução clínica mais longa permaneciam deitados por longos períodos e andavam com dificuldade.

Houve desprendimento dos cascos em alguns animais. As principais lesões macroscópicas, em 5 animais necropsiados, consistiram de rins moderadamente tumefeitos e pálidos, edema perirrenal e em vários outros tecidos e cavidades orgânicas. Em parte dos casos, edema subcutâneo ocorria associado a petéquias e sufusões. Alterações das mucosas do sistema digestivo consistiam de glossite, faringite e esofagite necróticas, hemorragias no abomaso e úlceras botonosas no intestino grosso. O conteúdo do íleo, cólon e reto era sanguinolento. Tendência hemorrágica era aparente também pela presença de hematomas intra-abdominais. Histologicamente, havia nefrose tubular acentuada, alterações regenerativas do epitélio tubular e cilindros hialinos e granulares intraluminais. As lesões da mucosa gastrintestinal incluíam necrose do epitélio que se estendia à lâmina própria, associada à reação inflamatória rica em mastócitos. A mucosa do omaso apresentava necrose seletiva do epitélio da camada basal. O diagnóstico foi baseado em dados epidemiológicos, clínicos, de necropsias e histopatológicos. A morfologia e a patogenia das le-

¹ Aceito para publicação em 13 de novembro de 1992.

Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor.

² Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97119-900 Santa Maria, Rio Grande do Sul.

³ Departamento de Patologia, UFSM.

⁴ Pesquisador (1A) do CNPq, Departamento de Patologia, UFSM.

sões são discutidas e comparadas com outros casos relatados de intoxicação por *Amaranthus* spp e outras nefrotóxicoses. É sugerido que a insuficiência renal foi o distúrbio primário que desencadeou as outras alterações.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, intoxicação por planta, nefrotóxicose, *Amaranthus spinosus*, Amaranthaceae, bovinos, patologia.

INTRODUÇÃO

A ingestão de certas espécies de *Amaranthus* tem sido descrita como causa de duas formas de intoxicação em bovinos: nefropatia tóxica (Jeppesen 1966, Cursack & Romano 1967, Stuart et al. 1975, Duffy et al. 1985, Armesto et al. 1989, Ferreira et al. 1991) e metemoglobinaemia causada pela ação de nitritos oriundos do metabolismo de nitratos contidos nessas plantas (Egyed & Miller 1963, Brackenridge 1956, Dodd & Coup 1957, Duckworth 1975, Rivera et al. 1984). A forma nefrotóxica tem sido também descrita em suínos (Buck et al. 1965, 1966, Osweiler et al. 1969, Sanko 1975, Cho & Lee 1984, Senk et al. 1985, Salles et al. 1991) ovinos e caprinos (González 1983) e, mais raramente, em equinos (Maxie 1985).

No Brasil, a intoxicação espontânea foi relatada em bovinos, associada à ingestão de *A. hybridus* e *A. blitum* (Ferreira et al. 1991) e em suínos associada a ingestão de *A. quitensis* e *A. viridis* (Salles et al. 1991).

Nesse estudo, relata-se a ocorrência de casos espontâneos de nefropatia tóxica em bovinos associada a ingestão de *A. spinosus* e são descritos os quadros clínico e anatomopatológico da intoxicação e discutidos os possíveis mecanismos patogênicos da toxicose.

MATERIAL E MÉTODOS

Dados epidemiológicos e sinais clínicos da doença nos bovinos foram obtidos com o proprietário em duas visitas ao local do surto. Quatro bovinos mortos espontaneamente (duas fêmeas adultas e dois terneiros de sobreano) e uma vaca sacrificada *in extremis* por sangria, foram necropsiados. Esses animais foram identificados com números de 1 a 5 (Quadro 1). Fragmentos de fígado, abomaso, omaso, rúmen, intestino, língua, rim, baço, linfonodos, esôfago, coração, encéfalo, pulmão e casco foram colhidos e fixados em formol a 10%.

O material colhido das cinco necropsias foi incluído em parafina, cortado a 5 µm e corado pela hematoxilina e eosina (HE). As seguintes colorações especiais (Thomson 1966) foram realizadas: a técnica do ácido periódico de Schiff (PAS) foi usada no rim de todos os bovinos e no abomaso e cólon dos bovinos 2, 4 e 5. A técnica de hematoxilina fosfotúngstica de Mallory foi usada no rim de todos os bovinos e no esôfago, fígado, intestino e coração do bovino 2. Fragmentos de cólon, abomaso, fígado, rim e intestino dos bovinos 2, 4 e 5 foram corados pelo azul de toluidina. Os rins e intestino dos cinco bovinos foram corados pela reação do ferrocianeto de potássio.

RESULTADOS

Epidemiologia e sinais clínicos

A intoxicação em bovinos ocorreu em um estabelecimento do município de Júlio de Castilhos, RS, durante o

mês de fevereiro de 1991. Cinquenta e cinco bovinos (35 vacas adultas e 20 terneiros de sobreano) foram colocados em uma lavoura de milho de aproximadamente 15 hectares. O milho não havia sido colhido devido à estiagem, e a lavoura estava severamente invadida por *Amaranthus spinosus* L.⁵, em estágio de frutificação, que constituía a única vegetação verde na resteva. Aproximadamente 30 dias após a introdução dos bovinos nessa lavoura, vários deles apresentaram sinais clínicos da intoxicação, quando foram retirados do local. Mesmo assim, alguns ainda adoeceram 3 dias após a retirada. Durante todo o episódio, adoeceram 19 animais (11 vacas e 8 terneiros), dos quais morreram 18 (11 vacas e 7 terneiros). Um animal recuperou-se parcialmente, ficando magro e pouco desenvolvido. Quase todo *A. spinosus* havia sido consumido pelos animais, restando somente os talos e poucas inflorescências indicando que a planta fora ingerida em grande quantidade.

Os sinais clínicos consistiram de depressão, anorexia, emagrecimento acentuado, diminuição dos movimentos ruminais, diarreia semilíquida, fétida, escura e misturada ao sangue digerido, edema submandibular, por vezes atingindo a região da barbeta e região posterior da coxa. Em casos com cursos clínicos prolongados, o abdômen era geralmente abaulado; os animais apresentavam dificuldade para se locomover e permaneciam deitados por longo tempo. A morte ocorria entre 3 a 7 dias após o aparecimento dos sinais clínicos.

Achados de necropsia

Os achados de necropsia na intoxicação por *A. spinosus* em bovinos encontram-se no Quadro 1. A maioria dos

⁵Material botânico identificado pela Dr^a Luciana Mautone, Jardim Botânico, Rio de Janeiro, RJ.

Quadro 1. Achados de necropsia em cinco bovinos intoxicados espontaneamente por *Amaranthus spinosus*

Achados	Bovinos				
	1a	2b	3a	4b	5b
Estado de nutrição	Bom	Mau	Bom	Mau	Mau
Fezes aderidas aos pêlos do perineo e da cauda	+++	++	++	++	++
Edema subcutâneo de declive	N/C ^d	++	-	-	-
Petéquias no tecido subcutâneo intramuscular	N/C	++	-	-	+
Perda de cascos	-	++	-	-	-
Hidropericárdio	N/C	++	-	-	+
Hidrotórax	N/C	++	-	-	+
Ascite	N/C	++	-	-	+
Ulcerações na língua e na faringe	N/C	-	-	++	++
Ulcerações na mucosa esofágica	+	+++	-	+++	+++
Ulcerações no abomaso	N/C	++	-	-	-
Edema da mucosa do abomaso	N/C	++	-	-	++
Edema, sufusões e hematoma no mesentério	N/C	++	-	-	+++
Edema da parede do fêo e cólon	N/C	++	-	-	++
Conteúdo sangüinolento no fêo, cólon e reto	+	+	-	++	++
Congestão da mucosa do cólon e ceco	++	-	-	++	++
Ulcerações na mucosa do cólon e ceco	N/C	+	-	++	-
Edema perirrenal	N/C	++	-	++	++
Rins tumefeitos, pálidos	N/C	++	+	++	++
Broncopneumonia abscedativa multifocal	N/C	-	+	-	+

^aTerneiro de sobreano. ^bVaca. ^c- Ausência de lesão, + lesão leve, ++ lesão moderada, +++ lesão acentuada. ^dN/C = Não consta. - Bovino 1 foi necropsiado pelo veterinário local, os demais, pelos autores.

animais estava em mau estado de nutrição e tinha fezes escuras aderidas aos pêlos da região perineal e cauda, edema subcutâneo das porções ventrais do corpo, principalmente mandíbula e barbel, petéquias e sufusões no tecido subcutâneo, principalmente na região do úbere, virilha e nos músculos esqueléticos. Perda de um casco de membro posterior e dois de membro anterior, associada a petéquias no tecido podofiloso, foi observada em um animal; mas o proprietário relatou ter observado essa alteração em, pelo menos, mais dois bovinos. Hidropericárdio, hidrotórax e ascite foram achados frequentes. Ulcerações lineares, arredondadas ou irregulares recobertas por exsudato amarelado ou marrom ocorriam nas mucosas da língua, faringe (Fig. 1) e esôfago (Fig. 2). Ulcerações focais, lineares, avermelhadas, de 3x1cm foram vistas ao longo das faces laterais das dobras do abomaso em um bovino. Em dois bovinos havia edema gelatinoso e translúcido da submucosa. No mesentério havia edema, petéquias e sufusões coalescentes, formando, por vezes, grandes hematomas. Um desses hematomas, localizado à

Quadro 2. *Intoxicação espontânea por Amaranthus spinosus em bovinos. Principais alterações microscópicas do rim*

Achados	Bovinos				
	1a	2b	3a	4b	5b
Degeneração e necrose das células tubulares	+ + ^c	++	+++	++	++
Dilatação de túbulos	++	+++	-	+	-
Regeneração do epitélio tubular	+++	+++	++	+++	++
Espessamento da cápsula glomerular	+	+	+	++	+
Aumento da celularidade nos glomérulos	-	+	-	+	+
Dilatação dos espaços urinários	+	+	++	+	-
Cilindros granulares na luz dos túbulos	+++	+++	++	+++	+++
Edema do interstício	-	++	-	+++	++
Infiltrado mononuclear intersticial	++	+	++	+	-
Aumento do tecido conjuntivo intersticial	-	++	++	+++	-
Calcificação de células epiteliais tubulares	+	+	++	-	-

^aTerreiro de sobreano, ^bVacas. ^c - Ausência de lesão, + lesão leve, ++ lesão moderada, +++ lesão acentuada.

altura do pâncreas e duodeno, tinha aproximadamente 2kg. Foram também observados edema das paredes do fêo e cólon, conteúdo sangüinolento no fêo, cólon e reto, congestão e úlceras botonosas na mucosa do cólon e do ceco. Edema perirrenal foi um achado freqüente. Os

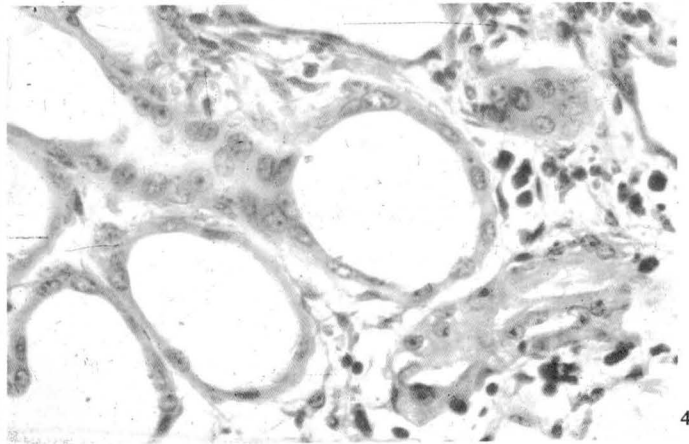
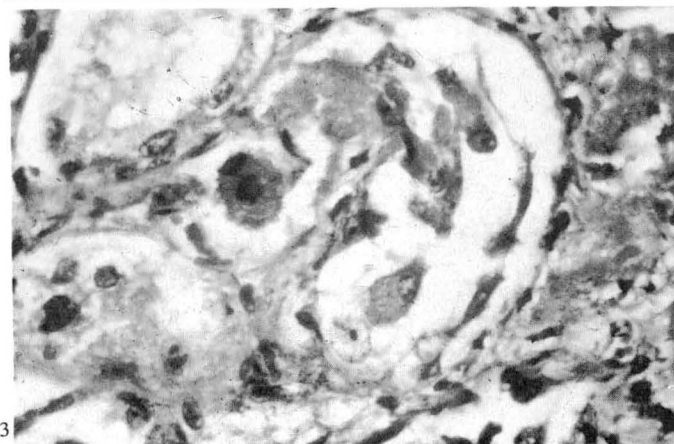
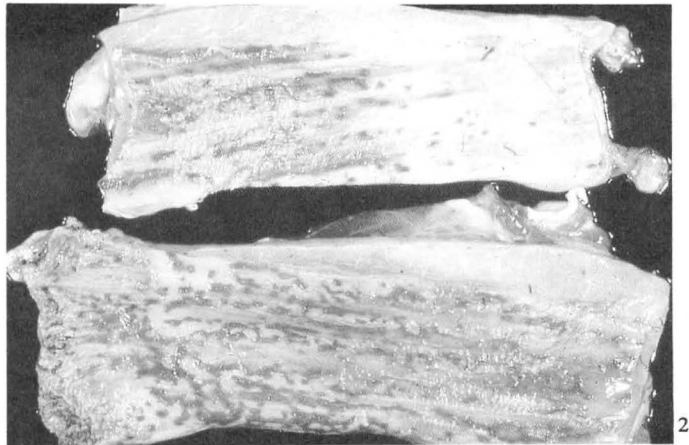
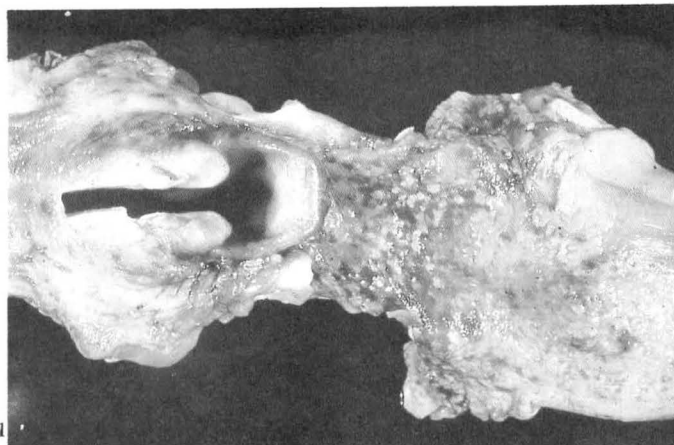


Fig. 1. Glossite e faringite difteróides, na intoxicação espontânea por *Amaranthus spinosus* em bovino.

Fig. 2. Esofagite difteróide, com ulcerações lineares ou irregularmente arredondadas na mucosa esofágica, na intoxicação espontânea por *A. spinosus* em bovino.

Fig. 3. Necrose e descamação de células epiteliais tubulares no rim de bovino na intoxicação espontânea por *A. spinosus*. HE, obj. 40.

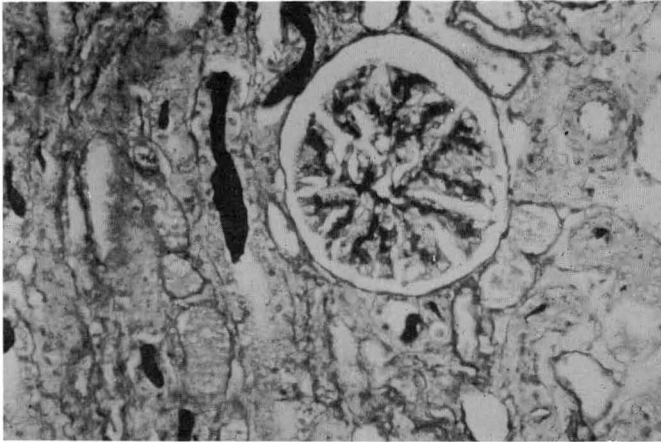
Fig. 4. Regeneração do epitélio tubular do rim na intoxicação espontânea por *A. spinosus* em bovino. Aglomerados de células com núcleo hipercromático e túbulos dilatados revestidos por células achatadas. Observam-se também edema e infiltrado linfocitário mononuclear intersticiais. HE, obj. 40.

rins estavam discretamente tumefeitos e pálidos. Na porção ventro-caudal do pulmão direito de um dos bovinos havia áreas de 4x2cm firmes e avermelhadas.

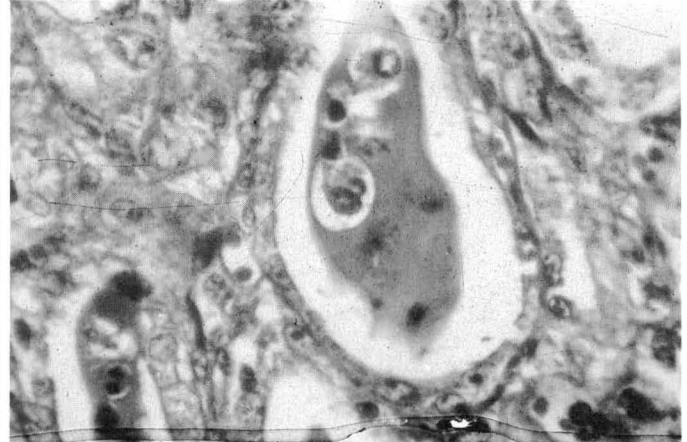
Achados histopatológicos

A principal lesão, presente nos cinco bovinos necropsiados (Quadro 2), consistia de acentuada nefrose caracterizada por extensa destruição das células epiteliais dos túbulos contornados, associada à regeneração de células tubulares e formação de cilindros intraluminais. As lesões regressivas variavam desde tumefação citoplasmática aguda, vacuolização (degeneração hidrópica) com gotas hialinas no citoplasma, até necrose caracterizada por células com citoplasma fortemente eosinofílico e núcleo picnótico que se desprendiam da membrana para a luz tubular (Fig. 3). Os túbulos contorcidos estavam dilatados e ocorria degeneração tubular sob duas formas: na primeira, células com núcleo grande, hipercromático, nucléolos evidentes e citoplasma róseo abundante agrupavam-se

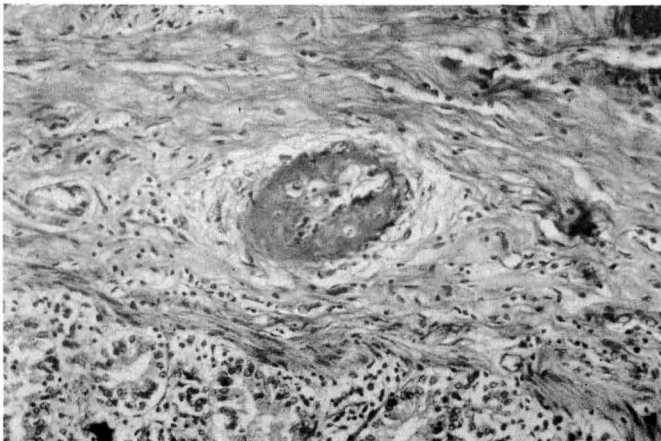
formando agregações. Na segunda, as células eram achatadas, com núcleo hipercromático róseo (Fig. 4). A membrana basal e a cápsula de Bowman não estavam rompidas, mas apresentavam discreto a moderado espessamento. Ocasionalmente, havia aumento da celularidade do corpúsculo glomerular e, por vezes, dilatação do espaço urinário. Dois tipos de cilindros foram observados na luz dos túbulos: um composto de material eosinofílico-fosco, finamente granular, que preenchia completamente a luz, repousando numa membrana basal despida de células epiteliais, outro homogêneo e fortemente acidofílico (Fig. 5). Nesse último, percebiam-se células íntegras ou degeneradas junto à membrana basal. Frequentemente células epiteliais dos túbulos contornados descamadas e mortas, ou detritos dessas células, apareciam em meio aos cilindros hialinos (Fig. 6). Edema, fibrose e infiltrado celular mononuclear intersticiais foram observados no rim de três animais. Na medula era abundante a quantidade de cilindros hialinos com discreta dilatação dos túbulos coletores.



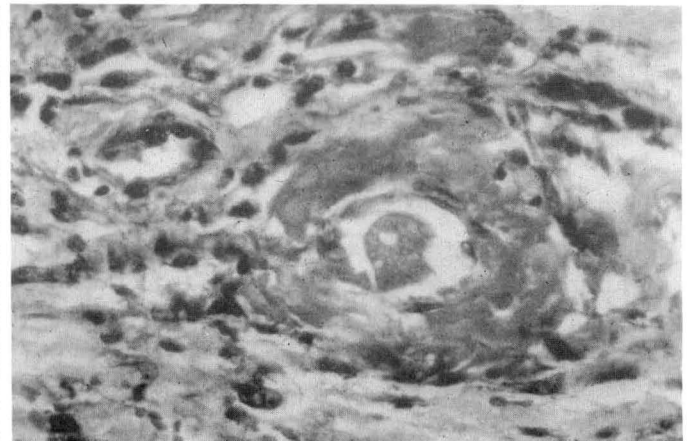
5



6



7



8

Fig. 5. Cilindros hialinos intratubulares no rim de bovino na intoxicação espontânea por *A. spinosus*. Um tipo de cilindro é fortemente eosinofílico e está no interior de túbulos com as células epiteliais poupadas, enquanto outro é formado por material fracamente eosinofílico, finamente granular e está no interior de túbulos que conservaram apenas a membrana basal, HE, obj. 16.

Fig. 7. Trombose e degeneração hialina da parede de artéria da submucosa do cólon, na intoxicação espontânea por *A. spinosus* em bovino. HE, obj. 6,3.

Fig. 6. Maior aumento de um cilindro hialino mostrado na figura anterior. O revestimento epitelial dos túbulos está relativamente conservado. Em meio aos cilindros há restos celulares. Cilindros deste tipo eventualmente causam obstrução tubular. HE, obj. 40.

Fig. 8. Degeneração hialina da média de pequena artéria da submucosa do cólon de bovino, na intoxicação espontânea por *A. spinosus*. Há tumefação e retração das células endoteliais. A maior parte do infiltrado adjacente é constituída de mastócitos. HE, obj. 40.

As áreas de necrose observadas na língua, faringe e esôfago consistiam de destruição completa do epitélio que era substituído por exsudato espesso, eosinofílico, fibrilar, contendo numerosos neutrófilos e colônias de bactérias em forma de bastonete. Nas adjacências havia trombose em artérias da lâmina própria e necrose da capa muscular. Moderada quantidade de tecido de granulação e infiltrado celular eram observados na base da lesão.

No trato gastrintestinal, as lesões mais constantes localizavam-se no intestino grosso; havia edema da parede, principalmente da submucosa, dilatação dos linfáticos das vilosidades, infiltração moderada de células mononucleares na lâmina própria e necrose focal da mucosa com presença de bactérias. Na submucosa, o edema era mais acentuado, o infiltrado celular mais numeroso e com predominância de mastócitos, muitos deles em degranulação. Grande número de macrófagos com citoplasma carregado de hemossiderina era visto no infiltrado celular. Numerosas pequenas artérias da submucosa apresentavam necrose hialina da parede e trombose (Fig. 7 e 8). Alguns vasos ainda não hialinizados, já exibiam necrose individual de miócitos. Artérias, arteríolas e capilares apresentavam acentuada tumefação, retração e, ocasionalmente, lise das células endoteliais. A dilatação dos vasos linfáticos era acentuada. No omaso de um animal (Bov. 3) havia necrose dos queratinócitos da camada basal e separação destes das camadas superiores. Ocasionalmente, substância hialina e detritos celulares preenchiam as fendas entre a lâmina própria e o epitélio estratificado. Depleção linfóide nos acúmulos linfóides intestino-associados foi também observada.

No abomaso de um animal (Bov. 2) havia necrose focal do epitélio com grande quantidade de exsudato fibri-

no-purulento circundado na base por tecido de granulação. O processo estendia-se às proximidades da serosa. Hifas espessas, septadas e ramificadas apareciam em abundância nos bordos da úlcera e dentro dos vasos da submucosa em meio a trombos. Colônias bacterianas, semelhantes às vistas no esôfago, ocorriam associadas às lesões do abomaso.

A reação hepática era semelhante em todos os animais examinados. Havia tumefação hepatocelular difusa, vacuolização ocasional de células hepáticas e necrose individual ou de pequenos grupos de hepatócitos. Acentuada ativação das células de Kupffer e estase leucocitária nos capilares sinusóides e, ocasionalmente, trombose dos ramos da veia porta ou da veia hepática subterminal eram vistas.

Um dos bovinos apresentou múltiplos abscessos no parênquima pulmonar.

As lesões do casco do bovino 2 caracterizavam-se por necrose do perfoplo. Nos pontos onde a camada espinhosa estava mais poupada, havia degeneração balonosa das células epiteliais e acentuada hiperqueratose. O tecido conjuntivo das papilas estava infiltrado por linfócitos. O epitélio do estrato médio também estava necrótico, especialmente na sua porção mais externa, mas, por vezes, a necrose atingia toda a papila. No cório interpapilar havia numerosas pequenas hemorragias, infiltrado linfocitário e muitos mastócitos. As células das extremidades das papilas primárias tinham núcleos hiper cromáticos e em mitose. No cório coronário, o infiltrado inflamatório era menos intenso e restringia-se à periferia dos vasos.

Nos outros órgãos, não foram encontradas lesões significativas.

Quadro 3. Dados epidemiológicos da intoxicação espontânea por *Amaranthus* spp em ruminantes associada à nefropatia

Referência	Planta	Estágio	Animais afetados	Época	Condições	Animais sob risco (Mortos)	Evolução clínica (em dias)	País
Jeppesen (1966)	<i>A. retroflexus</i>	Floração e frutif.	Terneiros	Verão	Pastagem seca infestada	12 (3)	Encontrado morto	EUA ^c
Jeppesen (1966)	<i>A. hybridus</i>	Floração e frutif.	Terneiros	Outono	Alimento contaminado	52 (4)	39-42 ^a	EUA
Cursack & Romano (1967)	<i>A. hybridus</i>	Frutif.	Bovinos de sobreano	Verão	Cultura seca infestada	48 ^b (30)	Não consta	Argentina
Stuart et al. (1975)	<i>A. retroflexus</i>	Não consta	Novilhos	Verão	Pastagem escassa infestada	22 (22)	Poucos dias	EUA
González (1983)	<i>Amaranthus</i> sp	Maduro	varias idades	Verão	Pastagem escassa infestada	Não consta (11)	Não consta	México
Duffy et al. (1985)	<i>A. quitensis</i>	Frutif.	Bovinos	Verão	Pastagem escassa infestada	70 (11)	3-5	Argentina
Armesto et al. (1989)	<i>A. hybridus</i>	Frutif.	Bovinos	Verão	Única planta disponível	84 (14)	2-3	Argentina
Ferreira et al. (1991)	<i>A. hybridus</i>	Frutif.	Terneiros, vacas	Outono	Seca, cultura infestada	526 (29)	3-10	Brasil
Ferreira et al. (1991)	<i>A. blitum</i>	Frutif.	Novilhos	Outono	Seca, cultura infestada	113 (30)	3-10	Brasil

^aAnimais que sobreviveram.

^bNúmeros aproximados.

^cEUA = Estados Unidos.

DISCUSSÃO

O diagnóstico de intoxicação por *Amaranthus spinosus* neste estudo foi baseado nos dados epidemiológicos, nos sinais clínicos, nas lesões de necropsia e nos achados histopatológicos.

A intoxicação por *Amaranthus* spp em ruminantes tem sido atribuída à nefropatia tóxica (Quadro 3) ou à ação de nitritos originários da metabolização de nitratos contidos na planta (Quadro 4). Os achados clínicos, de necropsia e histopatológicos dos bovinos desse estudo assemelham-se ao que é descrito para a forma nefrotóxica da intoxicação (Jeppesen 1966, Cursack & Romano 1967, Stuart et al. 1975, Duffy et al. 1985, Armesto et al. 1989, Ferreira et al. 1991). O fato de que a única forragem verde disponível no pasto para os bovinos consistia de *A. spinosus* que mostrava sinais de ter sido comida em grande quantidade, fortalece o diagnóstico da toxicose.

Sabe-se que inúmeras plantas são capazes de, sob variadas condições, armazenar quantidades tóxicas de nitratos (Clarke et al. 1981). Nenhum bovino deste estudo, no entanto, apresentou quadro clínico ou lesões semelhantes ao desenvolvido pela intoxicação por nitratos/nitritos (Jones 1988). Nitratos são convertidos a nitritos no trato digestivo e, ao atingirem a corrente circulatória, ligam-se à hemoglobina produzindo metemoglobina. A morte é rápida e o sangue e mucosas têm cor chocolate (Clarke et al. 1981, Jones 1988). Um relato atribui a intoxicação de bovinos por *Amaranthus hybridus* var. *quitensis* à toxicose subaguda por nitratos/nitritos (Cursack & Romano 1967). As lesões descritas no trabalho são, no entanto, da forma nefrotóxica da intoxicação. Em nenhum dos nossos casos observou-se presença de cristais de oxalatos associados à lesão renal que justifiquem a inclusão dessa substância como princípio ativo de *Amaranthus* spp, como já foi sugerido (Marshall et al. 1967, González 1983). A ausência de oxalatos no rim de animais intoxicados por *Amaranthus* spp é uma constante nos trabalhos onde essa alteração foi adequadamente pesquisada (Osweiler et al. 1969, Stuart et al. 1975, Duffy et al. 1985, Armesto et al.

1989, Salles et al. 1991, Ferreira et al. 1991). Em casos da intoxicação por oxalatos, ocorrem lesões características de nefrose renal associadas à presença de cristais de oxalatos na luz tubular (James 1978). Adicionalmente podem-se observar oxalatos nos vasos da mucosa do rúmen e do sistema nervoso central (James 1978, Jones & Hunt 1983). Essas alterações tampouco foram observadas nos bovinos desse estudo.

No presente surto, as taxas de morbidade variaram de 33,1% (em vacas) a 40% (em terneiros de sobreano) e a mortalidade foi de quase 100%. Em descrições de surtos espontâneos da intoxicação por *Amaranthus* spp em bovinos, os índices de mortalidade são variáveis (Quadro 5), mas índices semelhantes aos encontrados neste estudo têm sido documentados (Cursack & Romano 1967).

A época do ano em que ocorreu o surto aqui descrito e o estágio vegetativo (frutificação) em que se encontrava a planta tóxica, coincidem com os descritos nos EUA (Jeppesen 1966), na Argentina (Duffy et al. 1985) e no Brasil (Ferreira et al. 1991).

Também as situações predisponentes à intoxicação descritas por outros autores, assemelham-se às encontradas por nós. Nos dois surtos de intoxicação espontânea por *A. hybridus* e *A. blitum* descritos no Rio Grande do Sul (Ferreira et al. 1991), os bovinos haviam igualmente sido colocados em restingas de soja e sorgo, respectivamente. As culturas não tinham sido colhidas em virtude da estiagem, e foram invadidas por *Amaranthus* spp. Nessas condições os animais provavelmente ingerem grandes quantidades da planta, necessárias para que se produza a intoxicação. Num surto da intoxicação por *A. quitensis* em bovinos (Duffy et al. 1985), os animais encontravam-se numa lavoura de trigo altamente invadida pela planta.

Em experimentos com *Amaranthus retroflexus* dessecado em sufos (Osweiler et al. 1969), as lesões histológicas eram bem menos graves do que na intoxicação com a planta verde. *Amaranthus hybridus* e *A. blitum* estocados em refrigerador não produziram a doença clínica em bovinos, causando apenas lesões menos graves no rim (Ferreira et al. 1991). Nem intoxicação, nem lesões puderam ser in-

Quadro 4. Dados epidemiológicos da intoxicação espontânea por *Amaranthus* spp em ruminantes associada à ação de nitratos/nitritos

Referências	Plantas ^a	Animais afetadas	Época	Condições	Animais sob risco (mortos)	Evolução clínica	País
Egyed & Miller (1963)	<i>A. retroflexus</i>	Vacas	Verão	Contaminação da forragem	Não consta (1)	Aguda ^b	Israel
Brackenridge (1956)	<i>A. retroflexus</i> <i>Brassica rapa</i>	Vacas	Verão	Usadas como alimentação	Não consta (1)	Aguda ^b	Nova Zelândia
Dodd & Coup (1957)	<i>A. retroflexus</i>	Vacas	Outono	Predominância da planta	120 (1)	12-24h	Nova Zelândia
Strom (1967)	<i>A. retroflexus</i>	Ovelhas	Não consta	Fome, pastagem infestada	2014 (383)	4h	Austrália
Duckworth (1975)	<i>A. hybridus</i>	Terneiros	Não consta	Pastagem altamente infestada	Não consta (2)	7h	Nova Zelândia
Rivera et al. (1984)	<i>A. viridis</i>	Terneiros	Não consta	Usada como alimentação	Não consta (66)	12h	Cuba

^a O estágio da planta não foi especificado em nenhum dos trabalhos.

^b Tempo exato não especificado.

Quadro 5. Dados epidemiológicos da forma nefrotóxica da intoxicação espontânea por *Amaranthus* spp em bovinos

Referência	Número de bovinos sob risco	Número de bovinos doentes	Número de bovinos mortos	Morbidade (%)	Mortalidade (%)
Cursack & Romano (1967)	NE ^a	NE	NE	100	NE
Cursack & Romano (1967)	NE	NE	NE	50	NE
Stuart et al. (1975)	22	22	22	100	100
Duffy et al. (1985)	70	11	11	15,7	100
Ferreira et al. (1991)	526	NE	29	NE	NE
Ferreira et al. (1991)	113	NE	30	NE	NE
Presente estudo					
Vacas adultas	35	11	11	33,1	100
Terneiros	20	8	7	40,1	87,5

^aNE = não especificado.

duzidas em coelhos pela ingestão de *A. retroflexus* verde fresca (Schamber & Misek 1985). Porcos podem ser alimentados com espécies de *Amaranthus* sem se intoxicar, mas se criados em pocilgas sem contato com a planta, desenvolvem a intoxicação se tiverem acesso a *Amaranthus* spp (Osweiller et al. 1969, Buck 1975). Além disso, folhas de *Amaranthus* spp são usadas na preparação de saladas para a alimentação humana (Lorenzi 1991).

Certos fatores envolvidos na epidemiologia da intoxicação não estão bem esclarecidos. Pode haver desenvolvimento de tolerância à planta por ajustamento da flora gastrointestinal, como pode haver fatores relacionados com o ciclo da planta ou ainda, alelogênese química com outros organismos (fungos, por exemplo) que tornam a planta tóxica em determinadas ocasiões. De qualquer maneira, o princípio tóxico para a forma de intoxicação por *Amaranthus* spp descrita neste estudo é completamente desconhecido.

Embora não tenham sido realizados testes sorológicos em qualquer dos animais deste estudo, as lesões foram atribuídas à uremia de origem renal. Em surtos de *Amaranthus* spp onde esses exames foram feitos (Armesto et al. 1989, Ferreira et al. 1991), a uréia e a creatinina estavam significativamente elevadas. Esses são os parâmetros considerados mais confiáveis para um diagnóstico clínico de uremia (Tsuchya & Sato 1990). Além disso, sinais clínicos e lesões encontrados nos bovinos deste estudo são semelhantes às descritas por outros autores que encontraram níveis altos de uréia e creatinina e baixos em cálcio em bovinos intoxicados espontaneamente por *Amaranthus* spp (Stuart et al. 1975, Armesto et al. 1989, Ferreira et al. 1991). Adicionalmente, os sinais clínicos e lesões encontrados nos nossos casos são semelhantes aos descritos para uremia em ruminantes causada por plantas nefrotóxicas que contêm oxalato como *Anagallis arvensis* (Schneider 1978) e *Isotropis forrestii* (Kingsbury 1964, Connor 1977, James 1978, Clarke et al. 1981, Schenk et al. 1982), e plantas que contêm taninos como espécies de *Quercus* (Panciera 1978).

As lesões causadas pela ingestão das castanhas, folhas ou caules de espécies de *Quercus* (Smith 1956, Panciera 1978, Meyer 1991), inclusive os dois tipos de cilindros intratubulares (Smith 1956), são semelhantes às vistas

nos bovinos deste estudo. Os sinais clínicos da intoxicação por *Quercus* são atribuídos, por vários autores, à uremia provocada pela lesão renal (Meyer 1991). A doença acomete bovinos, ovinos (Panciera 1978) e eqüinos (Anderson et al. 1983). Em ruminantes, há sinais clínicos de depressão, anorexia, parada de ruminação e diarreia com fezes sangüinolentas. Na necropsia há gastrite hemorrágica com ulcerações (Meyer 1991). Essas alterações morfológicas foram vistas nos bovinos deste estudo. Na verdade, as lesões da intoxicação por *Amaranthus* spp em bovinos são indistinguíveis das produzidas nesta espécie por *Quercus* spp (Panciera 1978) e lesões semelhantes são descritas na uremia dos bovinos (Carlson 1990). Lesões semelhantes como edema gastrointestinal e mesentérico com enterocolite ulcerativa são descritos também associados à uremia dos cavalos (Anderson et al. 1983).

Os principais mecanismos patogênicos de insuficiência renal incluem: a) redução do fluxo sangüíneo, b) aumento da permeabilidade glomerular e c) obstrução tubular com retrodifusão de líquido para o interstício (Cheville 1983, Cotran et al. 1989, Divers 1990, Spargo & Taylor 1990). Essa obstrução tubular é causada por detritos celulares e compressão pelo edema intersticial (Cheville 1983). Embora não seja possível excluir qualquer desses mecanismos baseando-se apenas nos dados morfológicos disponíveis neste estudo, eles sugerem que a obstrução tubular por detritos celulares tenha sido o mecanismo mais provável. Os principais dados morfológicos que sugerem essa hipótese são: a) não foram observadas lesões glomerulares significativas; o aumento da celularidade glomerular foi interpretado mais como um aumento relativo devido à compressão do tufo glomerular, b) ausência de proteína nos espaços urinários, c) em quatro dos cinco bovinos necropsiados havia leve a moderada dilatação dos espaços urinários, indicando pressão retrógrada por impedimento do fluxo do filtrado glomerular (FG), d) o edema existente no interstício reforça essa hipótese; tem sido sugerido que o edema perirrenal se forme por difusão retrógrada do filtrado glomerular para o interstício, linfáticos e tecidos adjacentes ao rim, causada pelos defeitos no revestimento tubular oriundos da necrose das células epiteliais de revestimento (Cheville 1983, Maxie

1985, Divers 1990, Spargo & Taylor 1990), e) a grande quantidade de células em meio aos cilindros hialinos, formados por substância granular eosinofílica com desdramamento da membrana basal, sugerem que eles se originaram de células e protefmas da degradação do epitélio tubular, e não do aumento do filtrado glomerular. Lesões semelhantes, senão idênticas, foram observadas na intoxicação por *Quercus* (Smith 1956) e têm sido sugeridas como mecanismo patogênico de outras plantas nefrotóxicas com edema perirrenal em ovinos (Cooper et al. 1986). Lesões semelhantes têm sido observadas na uremia por retenção urinária experimentalmente induzida em cabras (Tsuchya & Sato 1990).

Sinais neurológicos demonstrados por alguns bovinos também ocorrem na uremia em ruminantes (Carlson 1990, Tsuchya & Sato 1990).

A explicação para as lesões edematosas cavitárias e no tecido subcutâneo é mais difícil. Segundo a hipótese proposta acima, os animais tenderiam a desenvolver polaquúria, oligúria e anúria (Cooper et al. 1986). Isso tem sido observado em bovinos intoxicados por *Amaranthus quitensis* (Armesto et al. 1989). Uma causa para os edemas generalizados na intoxicação por *Quercus* sp em eqüinos (Anderson et al. 1983), com lesões semelhantes às descritas neste estudo, foi atribuída à ativação do plasminogênio tissular por lesão endotelial. O ativador do plasminogênio aumenta a permeabilidade vascular. É provável, também, que os edemas sejam induzidos pela alta osmolaridade da matriz extracelular, causada pelo acúmulo de uréia e outros eletrólitos como o Na⁺ (Price & Wilson 1976, Confer & Panciera 1988, Tsuchya & Sato 1990). O aumento da permeabilidade vascular na uremia, com resultante edema, tem sido creditado à lesão vascular induzida por mastócitos (Cheville 1983). Tanto as lesões vasculares, como o infiltrado mastocitário, foram observados nos bovinos desse estudo.

Lesões hemorrágicas e depleção linfóide têm sido também relatadas na uremia (Tsuchya & Sato 1990) e foram aqui observadas; são também mencionadas em outros surtos de intoxicação por *Amaranthus* spp em bovinos (Duffy et al. 1985). A depleção linfóide é de valor discutível para o diagnóstico pois, além de ser de difícil avaliação, ocorre associada a um número grande de doenças. As hemorragias, na uremia, têm sido atribuídas à aplasia medular (Tsuchya & Sato 1990) e à coagulação intravascular disseminada (CID) (Anderson et al. 1983). Nos bovinos deste estudo, não foi possível constatar CID e a medula óssea não foi examinada.

Necrose hialina e trombose de artérias vistas no trato gastrointestinal, nos casos aqui descritos, foram também observados no trato gastrointestinal de eqüinos intoxicados por *Quercus* sp (Anderson et al. 1983) e no coração de bovinos intoxicados por *Amaranthus retroflexus* (Stuart et al. 1975).

As lesões micóticas no abomaso são provavelmente secundárias às lesões degenerativas do epitélio. O fungo não foi identificado, mas infecções oportunistas desse

tipo são descritas no abomaso (Barker & Van Dreumel 1985).

Apenas um bovino necropsiado mostrava desprendimento dos cascos, mas essa alteração foi observada em, pelo menos, mais dois animais do presente surto. Esse tipo de lesão não foi previamente associado à intoxicação por *Amaranthus* spp em bovinos e nem é possível afirmar que essa associação tenha ocorrido aqui, embora seja provável. A laminite em bovinos é uma lesão de patogenia complexa e ocorre na acidose metabólica (Linford 1990) que é um componente da uremia (Carlson 1990). Separação do casco tem sido mencionada em casos extremos e raros de laminite (Blood & Radostitis 1989). Outras causas de desprendimento dos cascos são a intoxicação em bovinos pelo cogumelo *Ramaria flavo-brunnescens* (Santos et al. 1975), ou pela festuca, provavelmente contaminada por fungos do tipo *Claviceps purpurea* (Davis 1990). Essas duas últimas hipóteses podem ser descartadas nos nossos casos, pois nenhum dos agentes mencionados estava presente na pastagem.

Devem ser consideradas, no diagnóstico diferencial da intoxicação por *Amaranthus* spp em bovinos, outras toxicoses e, mesmo, doenças víricas. No caso específico das nefrotoxinas, as plantas nefrotóxicas já descritas no Brasil (Schenk et al. 1982, Döbereiner & Tokarnia 1985) e outras que, embora ainda não reconhecidas aqui como tóxicas, são capazes de causar intoxicação. É o caso de *Anagallis arvensis* (Schneider 1978), tóxica para ovinos e que existe em nosso meio (Observações pessoais não publicadas).

Doenças víricas que incluem a BVD/MD, febre catarral maligna, febre aftosa e estomatite vesicular devem ser levadas em consideração. A infecção pelo vírus da BVD/MD apresenta várias formas clínicas dependendo de múltiplos e complexos fatores (Perdrizet 1990). Na forma mais possível de ser confundida com toxicose relatada neste trabalho, há as lesões necróticas clássicas nas placas de Peyer, febre e lesões mais acentuadas no intestino delgado. Embora ocorram surtos afetando de 40% a 50% de animais não imunes, normalmente a doença clínica atinge menos que 5% do rebanho (Perdrizet 1990). Nos casos deste estudo, a doença era afebril, não apresentava as lesões clássicas das placas de Peyer e teve um índice de morbidade de 33,1% nas vacas adultas e 40% em terneiros. A mortalidade foi de praticamente 100%, o que não é comum para BVD/MD (Perdrizet 1990). Na febre catarral maligna, a diarreia é mais intensa, a febre é muito elevada, há queratoconjuntivite, salivação, descarga nasal, e as lesões epiteliais são mais difusas. Histologicamente, há acúmulos linfóides característicos ao redor dos vasos, nos espaços porta e ao redor dos glomérulos renais. Lesões de encefalite e infiltrados celulares adventícios ocorrem nos vasos do cérebro e das meninges e há exsudato fibrinoso nas meninges (Barros et al. 1983). Nenhuma dessas alterações ocorreu nos bovinos deste estudo. Doenças como aftosa e estomatite vesicular cursam sem diarreia e têm índice de mortalidade muito baixo (Barker & Van Dreumel 1985, Smith 1990). Além disso,

o problema foi solucionado quando se retiraram os bovinos do campo infestado por *A. spinosus* e, acima de tudo, as doenças víricas acima mencionadas não apresentam as alterações renais características encontradas na intoxicação por *Amaranthus* spp.

Não se conhece tratamento para a forma nefrotóxica da intoxicação por *Amaranthus* spp em bovinos. Métodos profiláticos incluem a roçagem de áreas invadidas pela planta antes da colocação de bovinos, uma vez que a planta dessecada perde consideravelmente sua toxicidade (Osweiler et al. 1969, Ferreira et al. 1991). Em casos de intoxicação, os animais devem ser imediatamente removidos do local, mas podem ocorrer casos mesmo alguns dias após a retirada dos animais do pasto contaminado.

REFERÊNCIAS

- Anderson G.A., Mount M.E., Vrins A.A. & Ziemer E.L. 1983. Fatal acorn poisoning in a horse: Pathologic findings and diagnostic considerations. J. Am. Vet. Med. Assoc. 182:1105-1110.
- Armesto R.R., Grande H.A., Baroni A.C., Baroni E.E. & Blogio J. 1989. Intoxicación por *Amaranthus quitensis* en vaquillonas Holando Argentino. Vet. Arg. 6:692-700.
- Barker I.K. & Van Dreumel A.A. 1985. The alimentary system, p. 1-235. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (ed.), Pathology of Domestic Animals. Vol. 2, 3rd ed. Academic Press, Orlando.
- Barros S.S., Santos M.N. & Barros C.S.L. 1983. Surto de febre catarral maligna no Rio Grande do Sul. Pesq. Vet. Bras. 3:81-86.
- Brackenridge D.T. 1956. Nitrate poisoning caused by turnips and redroot. N.Z. Vet. J. 4:457-497.
- Blood D.C. & Radostits O.M. 1989. Veterinary Medicine. 7th ed. Balliere Tindall, p. 457-497.
- Buck W.B. 1975. Metallic poisons, coal-tar poisoning and perirenal edema, p. 835-853. In: Dunne H.W. & Leman A.D. (ed.) Diseases of Swine. 4th ed. Iowa State University Press, Ames.
- Buck W.B., Preston K.S. & Abel M. 1965. Common weeds as a cause of perirenal edema in swine. Iowa State Univ. Vet. 27:105-108.
- Buck W.B., Preston K.S., Abel M. & Marshal V.L. 1966. Perirenal edema in swine: A disease caused by common weeds. J. Am. Vet. Med. Assoc. 148:1525-1531.
- Carlson G.P. 1990. Clinical chemical tests, p. 386-414. In: Smith B.D. (ed.) Large Animal Internal Medicine. C.V. Mosby, Baltimore.
- Cheville N.F. 1983. Cell Pathology. 2nd ed. Iowa State University Press, Ames, p. 559-586.
- Cho S.-W. & Lee C.-S. 1984. [Histopathological observations on natural cases and the experimental occurrence of perirenal oedema in pigs.] Korean J. Vet. Res. 24(2):173-182. (Vet. Bull. 55, Abstr. 3791)
- Clarke M., Harvey D.G. & Humphreys D.J. 1981. Veterinary Toxicology. Ballière Tindall, p. 23-78.
- Confer A.W. & Panciera R.J. 1988. Urinary System, p. 437-465. In: Thomson R.G. (ed.) Special Veterinary Pathology. B.C. Decker, Philadelphia.
- Connor H.E. 1977. The Poisonous Plants in New Zealand. E.C. Keating, Wellington, p. 11-30.
- Cooper T.B., Huxtable C.R. & Vogel P. 1986. The nephrotoxicity of *Isotropis forrestii* in sheep. Aust. Vet. J. 63:178-182.
- Cotran R.S., Kumar V. & Robbins S.L. 1989. Robbins pathological basis of disease. 4th ed. W.B. Saunders, Philadelphia, p. 1011-1081.
- Cursack H.A. & Romano L.A. 1967. Possible intoxicación sub-aguda con nitratos y nitritos. El "yuyo colorado" (*Amaranthus hybridus*, var. *quitensis*) como espécie sospechosa de ser toxica para el ganado vacuno. Gaceta Vet. 29:69-74.
- Davis E.W. 1990. Fescue foot p. 1172-1173. In: Smith B.P. (ed.) Large Animal Internal Medicine. C.V. Mosby Company, Baltimore.
- Divers T.J. 1990. Alterations in urinary function, p. 105-203. In: Smith B.D. (ed.) Large Animal Internal Medicine. C.V. Mosby Company, Baltimore.
- Döbereiner J. & Tokarnia C.H. 1985. Giftpflanzenbedingte Nierenschädigungen bei Rindern in Brasilien. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 92:411-415.
- Dodd D.C. & Coup M.R. 1957. Poisoning of cattle by certain nitrate-containing plants. NZ. Vet. J. 5:51-54.
- Duckworth R.H. 1975. Poisoning in cattle by *Amaranthus*. N.Z. Vet. J. 23:154-155.
- Duffy S.J., León E.A., Gavier M.D., Vieira F.J.B., Corbelini C.N. & Nogueira M. 1985. Intoxicación por *Amaranthus quitensis* (Yuyo Colorado) en bovinos. Vet. Arg. 2:942-949.
- Egyed M. & Miller A. 1963. Nitrate poisoning in cattle due to feeding on *Amaranthus retroflexus*. Refuah, Vet. 20:167-169.
- Ferreira J.L.M., Riet-Correa F., Schild A.L. & Méndez M.C. 1991. Intoxicación por *Amaranthus* spp (Amaranthaceae) em bovinos no Rio Grande do Sul. Pesq. Vet. Bras. 11(3/4):49-54.
- González C. 1983. Nefrosis tubular tóxica en ovinos y caprinos asociada a la ingestión de plantas del genero *Amaranthus* spp. Vet. Mex. 14:247-251.
- James L.F. 1978. Oxalate poisoning in livestock, p. 134-144. In: Keeler R.F., Van Kampen K.R. & James L.F. (ed.) Effects of Poisonous Plants in Livestock. Academic Press, New York.
- Jeppesen Q.E. 1966. Bovine perirenal edema associated with pigweed. J. Am. Vet. Med. Assoc. 149:22.
- Jones T.O. 1988. Nitrate poisoning in cattle. Practice 10:199-203.
- Jones T.C. & Hunt R.D. 1983. Veterinary Pathology. 5th ed. Lea & Febiger, p. 901-1030.
- Kingsbury J.M. 1964. Poisonous Plants of the United States and Canada. Prentice Hall, Englewood Cliffs.
- Linford R.L. 1990. Laminitis (founder), p. 1158-1168. In: Smith B.D. (ed.) Animal Internal Medicine. C.V. Mosby, Baltimore.
- Lorenzi H. 1991. Plantas Daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais. 2ª ed. Plantarum, Nova Odessa.
- Marshal V.L., Buck W.B. & Bell G.L. 1967. Pigweed (*Amaranthus retroflexus*): An oxalate containing plant. Am. J. Vet. Res. 28:888-889.
- Maxie M.G. 1985. The urinary system. In: Jubb K.V.F., Kennedy P. C. & Palmer N. (ed.), Pathology of Domestic Animals. 3rd ed. Academic Press, Orlando. Vol. 2, p.343-411.
- Meyer S. 1991. Poison Acorn. Practice 13:167.
- Osweiler G.D., Buck W.B. & Bicknell E.J. 1969. Am. J. Vet. Res. 30:557-566.
- Panciera R.J. 1978. Oak poisoning in cattle, p. 499-504. In: Keeler R.F., Van Kampen K.R. & James L.F. (ed.) Effects of Poisonous Plants in Livestock. Academic Press, New York.
- Perdrizet J.A. 1990. Bovine virus diarrhea (BVD) mucosal disease (BVD/MD), p. 731-737. In: Smith B.D. (ed.) Large Animal Medicine. C.V. Mesby, Baltimore.
- Price S.A. & Wilson S.M. 1976. Pathophysiology. Clinical concepts of disease process. J.B. Lippincott, New York, p. 541-570.
- Rivera M., Aguillo R., Lorenzo M., Ferro M. & Vilbalon J. 1984. Reporte de intoxicación en bovinos jóvenes por el *Amaranthus viridis* (Bledo blanco). Revta Cub. Cienc. Vet. 15:335-338.
- Salles M.S., Barros C.S.L., Lemos R.A. & Pilati C. 1991. Perirenal edema associated with *Amaranthus* spp poisoning in Brazilian swine. Vet. Human Toxicol. 33:616-617.
- Sanko R.F. 1975. Perirenal edema in swine caused by ingestion of *Amaranthus retroflexus* (pigweed). Vet. Med. Small Anim. Clin. 70:42-43.
- Santos M.N., Barros S.S. & Barros C.S.L. 1975. Intoxicación em bovinos pelo cogumelo *Ramaria flavo-brunnescens*. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet. 10:105-109.
- Schamber G.J. & Misek A.R. 1985. *Amaranthus retroflexus* (redroot pigweed): Inability to cause renal toxicosis in rabbits. Am. J. Vet. Res. 26:226-227.
- Schenk M.A.M., Faria Filho T.T., Pimentel D.M. & Thiago L.R.L.S. 1982. Intoxicación por oxalatos em vacas lactantes em pastagens de setária. Pesq. Agropec. Bras. 17(9):1403-1407.

- Schneider D.J. 1978. Fatal ovine nephrosis caused by *Anagallis arvensis* L.J. South Afr. Vet. Assoc. 49:321-324.
- Senk L., Pogacnik M., Princes I. & Leban M. 1985. [Occurrence of perirenal oedema (nephropathy) in swine in Slovenia.] Veterinarski Glasnik 32(12):1277-1282. (Vet. Bull. 56(9), Abstr. 6373)
- Smith B.S. 1990. Malignant catarrhal fever (MCF), bovine malignant catarrh; malignant catarrh, p. 737-739. In: Smith B.D. (ed.) Large Animal Internal Medicine. C.V. Mosby Company, Baltimore.
- Smith H.A. 1956. The diagnosis of oak poisoning. South. Vet. 13:34-36.
- Spargo B.H. & Taylor J.R. 1990. Rim, p. 736-785. In: Rubin E. & Farber J.L. (ed.), Patologia. Interlivros, Rio de Janeiro.
- Strom C.G. 1967. Lush plants can kill. Queensl. Agric. J. 93:498-499.
- Stuart B.P., Nicholson S.S., Smith J.B. 1975. Perirenal edema and toxic nephrosis in cattle, associated with ingestion of pigweed. J. Am. Med. Assoc. 167(10):347-364.
- Thomson S.W. 1966. Selected Histochemical and Histopathological Methods. Charles C. Thomas, Springfield.
- Tsuchya R. & Sato 1990. Uremic changes induced by experimental urinary retention in goats. Jpn J. Vet. Sci. 52:113-119.

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Pseudocalymma elegans* (Bignoniaceae) EM CAPRINOS¹

CARLOS HUBINGER TOKARNIA², PAULO VARGAS PEIXOTO³ e JÜRGEN DÖBEREINER⁴

ABSTRACT.- Tokarnia C.H., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 1993. [Experimental poisoning of goats by *Pseudocalymma elegans* (Bignoniaceae).] Intoxicação experimental por *Pseudocalymma elegans* (Bignoniaceae) em caprinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 13(1/2):35-39. Depto Nutrição Animal e Pastagens, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, and Embrapa-Saúde Animal, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970, Brazil.

The sprouts of *Pseudocalymma elegans* (Vell.) Kuhl., a liane known to be toxic to cattle in the State of Rio de Janeiro, were found to be toxic also for goats. The smallest dose of the plant administered orally, which caused death of all goats, was 1 g/kg (5 animals). One out of 4 goats died when fed 0.75 g/kg and one of 5 goats given 0.5 g/kg. The experiments suggest that young animals are more sensitive. All but one animal that showed symptoms of poisoning, died. Both symptoms and death occurred in most goats when exercised. The course of the poisoning varied from 6 minutes to 3 days. The symptoms of poisoning by *P. elegans* in goats were reluctance to walk, sternal decubitus, dispnea, frequent bleating, muscular tremors, lateral decubitus and death. Exercise was found to always aggravate symptoms. Post-mortem examinations revealed no significant lesions. Histopathological studies generally showed lesions in heart, liver and kidney. Necrosis of heart fibers were seen in the myocardium of 2 goats, accompanied by macrophages and in one case by fibroblasts. Vacuolization was seen in most livers. In the kidney hydropic-vacuolar degeneration of the epithelial cells of the proximal convoluted tubules was seen in 3 cases and coagulative necrosis of the tubules in the cortex of one case.

INDEX TERMS: Poisonous plants, *Pseudocalymma elegans*, Bignoniaceae, plant poisoning, goats, pathology.

SINOPSE.- Foi confirmada também para caprinos a toxidez da brotação de *Pseudocalymma elegans* (Vell.) Kuhl., planta tóxica de interesse pecuário para bovinos no Estado do Rio de Janeiro. A menor dose da brotação fresca, administrada por via oral, que causou a morte de todos os caprinos, foi 1 g/kg (5 animais). Ainda morreram um de 4 caprinos que tinham ingerido 0,75 g/kg e um de 5 caprinos que tinham recebido 0,5 g/kg. Os experimentos sugerem que animais jovens são mais sensíveis a essa intoxicação. Todos os animais que mostraram sintomas, com exceção de um, morreram. Os sintomas de intoxicação e a morte dos caprinos apareceram, na grande maioria dos casos, após exercício a que os animais experimentais eram submetidos 2 vezes ao dia, a partir de aproximadamente 15 horas após a ingestão da planta. Além disto, o exercício, toda vez que era aplicado, também acentuava a sintomatologia, uma vez manifestada. A evolução clínica da intoxicação por *P. elegans* em caprinos variou de 6 minutos a 3 dias. Os sintomas observados foram relutância em andar, decúbito esterno-abdominal, dispnéia, freqüentes balidos, tremores musculares, decúbito lateral e morte. Não foram verificados achados de necropsia significantes. Os exames histopatológicos revelaram alterações no coração, fígado e rim. No

miocárdio observaram-se áreas de necrose de coagulação em 2 dos 8 caprinos mortos, com presença de macrófagos, e em um adicionalmente com presença de fibroblastos. No fígado observou-se, na maioria dos casos, vacuolização de hepatócitos. No rim foi observada degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contornados distais em 3 animais, e necrose de coagulação tubular no córtex de um.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, *Pseudocalymma elegans*, Bignoniaceae, intoxicação por planta, caprinos, patologia.

INTRODUÇÃO

Pseudocalymma elegans (Vell.) Kuhl., um cipó da família Bignoniaceae, foi uma das primeiras plantas tóxicas estudadas no Brasil. Através da experimentação em animais, esta planta foi identificada como causa de mortalidades em bovinos, que ocorriam no vale do rio Sant'Ana, município de Vassouras, Estado do Rio de Janeiro (Mello & Fernandes 1941).

É planta de limitada distribuição geográfica e por isto de menor importância; sabe-se de sua ocorrência como causa de mortes em bovinos somente nos municípios de Vassouras (vale do rio Sant'Ana), Saquarema e Rio de Janeiro (Campo Grande), sempre em encostas de morros.

Sob condições naturais, a intoxicação por *P. elegans* tem sido observada até agora somente em bovinos;

¹ Aceito para publicação em 30 de junho de 1992.

² Depto de Nutrição Animal e Pastagens, Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ 23851-970; bolsista do CNPq (305010-76/VT).

³ Depto Patologia Animal, UFRJ.

⁴ Embrapa-Saúde Animal, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970; bolsista do CNPq (305294/88-1).

experimentalmente tem sido intoxicados, por via oral, além dos bovinos (Mello & Fernandes 1941, Tokarnia et al. 1969), ovinos (Consorte, dados não publicados), coelhos e cobaias (Mello & Fernandes 1941, Tavares et al. 1974) e também caprinos (Mello & Fernandes 1941).

Em relação ao caprino foram realizados experimentos somente em 2 animais. Um morreu com a dosagem de 1 g/kg das folhas frescas (maceradas em 150 ml de água), 91 horas após a sua administração, tendo mostrado a partir de 15 horas após a administração da planta tristeza, respiração acelerada, insensibilidade cutânea, caminhar com dificuldade, anorexia, depois respiração mais lenta com sopro labial. Os principais achados de necropsia foram congestão pulmonar e hepática. Não são fornecidos os resultados de estudos histopatológicos. O outro caprino recebeu 1 ou 2 g/kg (há contradição no texto) das folhas (?), do extrato (?) e no dia seguinte apresentou iridociclite; adicionalmente mostrou nos dias seguintes ligeira perda de sensibilidade cutânea, tristeza, inapetência, acentuado emagrecimento, mas não morreu; após 24 dias desde o início do experimento foi sacrificado. Só são descritas as alterações oculares.

O presente estudo foi realizado para estabelecer a dose letal e melhor caracterizar o quadro clínico-patológico da intoxicação por *P. elegans* em caprinos, tendo em vista que os dados encontrados na literatura sobre essa intoxicação são insuficientes.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados experimentos com a planta coletada em 10.10.90, 14.11.90 e 15.1.91 na região de São Conrado, vale do rio Sant'Ana, município de Vassouras, Estado do Rio de Janeiro.

Em todos os experimentos foi administrada a brotação tenra da planta (de cor arroxeadada) no mesmo dia da coleta ou nos dias seguintes, neste último caso tendo sido guardada em sacos plásticos na geladeira. Todos os experimentos consistiram em administrações únicas da planta, que era ministrada manualmente por via oral. Essas administrações eram sempre efetuadas à tardinha ou no começo da noite.

Os animais experimentais eram machos ou fêmeas não prenhes, na maioria adultos; 3 eram jovens. Os animais eram mantidos confinados, durante a noite em um box, durante o dia num pasto pequeno. Recebiam capim inteiro e picado e água à vontade. Uma vez que o exercício pode desencadear ou precipitar os sintomas de intoxicação por *P. elegans*, todos os caprinos eram movimentados nos dias seguintes pela manhã e à tarde, durante pelo menos 15 minutos. Quando não queriam andar, eram submetidos a exercício forçado.

Em casos de morte, procedia-se imediatamente a necropsia. Fragmentos de coração, pulmões, fígado, rins, baço, linfonodos, tubo digestivo e sistema nervoso central eram coletados em formol a 10%, incluídos em parafina, cortados em micrótomo e corados pela hematoxilina-eosina.

RESULTADOS

Os principais dados dos experimentos constam dos Quadros 1 e 2.

Doses administradas. A dose menor que causou a

morte de todos os caprinos (5) foi 1 g/kg. Ainda morreram um dos 4 animais que ingeriram dose de 0,75 g/kg e um dos 5 caprinos que ingeriram dose de 0,5 g/kg. Todos os animais que mostraram sintomas, morreram, com exceção de um que ingeriu 0,75 g/kg da planta e mostrou sintomas durante 3 dias e se recuperou (Capr. 4897).

Influência do exercício. Todos os animais foram exercitados, com exceção de um (Capr. 4907) que já na manhã seguinte à administração da planta foi encontrado em decúbito lateral antes de terem passado as 15 horas para se iniciar o exercício. Os primeiros sintomas foram observados nos demais animais somente após exercício. Nos casos fatais os animais morreram durante ou após o primeiro exercício (Capr. 4882, 4888, 4890, 4904, 4909), durante o 2º exercício (Capr. 4886) ou durante o exercício de tarde do 3º dia do experimento (Capr. 4908). Um oitavo animal morreu no 5º dia sem nunca ter sido exercitado (Capr. 4907). No único animal que adoeceu, mas se recuperou (Capr. 4890), observou-se somente que este permanecia sempre deitado, já a partir do primeiro exercício.

Evolução clínica. Em 4 casos fatais a evolução ficou entre 6 e 13 minutos, em 2 casos foi de 2h e 2h 25min, e nos outros dois foi de 2 dias e meio e 3 dias. No único animal que adoeceu e se recuperou, sintomas de intoxicação foram observados durante 3 dias.

Sintomas de intoxicação. A sintomatologia foi bastante uniforme. Quando movimentados, os animais não queriam mais andar e às vezes deitavam em decúbito esterno-abdominal; ao exercício forçado, apresentavam acentuada dispnéia, freqüentemente baliagem, apresentavam tremores musculares, ficavam em decúbito lateral e morriam. O único animal que não foi exercitado, mostrou sintomas semelhantes.

Achados de necropsia. Os achados macroscópicos foram escassos e pouco significantes. Em um animal foi verificado congestão e, em outro, edema pulmonar, e num terceiro, congestão das porções iniciais do fêto.

Alterações histológicas. Os órgãos afetados foram principalmente coração, fígado e rim. Nos 8 animais que morreram durante os experimentos foi verificado no coração de um animal edema intracelular, sob forma de focos, em que as fibras cardíacas estavam vacuolizadas. Em 2 animais foram observadas áreas de necrose de coagulação, em um deles com a presença de macrófagos em pequena quantidade (Capr. 4907), no outro (Capr. 4908) com a presença de grande quantidade de macrófagos e também, em menor grau, de fibroblastos. No fígado observou-se tumefação dos hepatócitos em 4 casos. Vacuolização dos hepatócitos foi vista em 6 casos; esta afetava partes variáveis do lóbulo hepático e era de intensidade leve a moderada. Em 2 animais foi observada a presença de esferas hialinas dentro do citoplasma de hepatócitos ("degeneração em gotas hialinas"), com variável localização (Capr. 4882, 4886) e em um caso a presença de corpúsculos de choque (Capr. 4890). No rim foi obser-

Quadro 1. Experimentos em caprinos realizados com a brotação de *Pseudocalymma elegans*

Caprino n ^o (reg. SAP)	Peso (kg)	Planta administrada		Desfecho	Sintomas	Início dos sintomas após começo do exercício	Evolução	Morte após início da administração da planta	Achados de necropsia
		Data da administração	Dose (g/kg)						
4882 (25026)	42	14.11.90	1,0	Morreu 2h e 30min. após início do 1 ^o exercício	Durante o primeiro exercício da manhã seguinte (2 ^o dia do experimento ^a) não queria correr; sob exercício forçado ficou em decúbito lateral, logo em seguida em decúbito esternal; após o exercício deitava com freqüência; foi visto comendo e 5 min. após foi encontrado morto	5 min.	2h 25 min.	15h 17 min.	Pulmões com edema
4884 (25008)	28 40	14.11.90 10.10.90	0,6 1,0	Sem sintomas Morreu durante 2 ^o exercício	Durante o exercício da manhã (2 ^o dia exp.) sem sintomas. Durante o exercício à tarde não quis correr; sob exercício forçado, com dispnéia, tremores musculares, deitava; sempre que levantava, com tremores e deitava de novo; com a continuação dos exercícios forçados, com muita dispnéia, ficou em decúbito lateral, balia, morte	2 min.	12 min.	24h 21 min.	Pulmões com congestão
4887 (25009)	49 32	12.10.90 11.10.90	0,5 2,0	Sem sintomas Morreu durante 1 ^o exercício	Durante o exercício da manhã (2 ^o dia exp.) não queria mais correr, deitou em decúbito esternal; ao exercício forçado dispnéia acentuada, balidos; ficou em decúbito lateral, com dispnéia acentuada, opistótono; morte	5 min.	8 min.	15h 33 min.	Sem alterações
4889 (25012)	39 27	10.10.90 12.10.90	0,5 1,0	Sem sintomas Morreu durante 1 ^o exercício	Durante o exercício da manhã (2 ^o dia exp.) não queria mais correr, deitou; ao exercício forçado baliu, ficou em decúbito lateral; com a continuação dos exercícios forçados, esses sintomas continuaram e o animal morreu	6 min.	13 min.	15h 37 min.	Sem alterações
4891	31	14.11.90	0,5	Sem sintomas	-	-	-	-	-
4892	28	12.10.90	0,75	Sem sintomas	-	-	-	-	-
4893	24	12.10.90	0,6	Sem sintomas	-	-	-	-	-
4897	32	14.11.90	0,75	Adoeceu moderadamente	Durante o exercício da manhã (2 ^o dia exp.), deitava. Ao exercício da tarde, frequentemente deitava; depois sempre ficava deitado. No dia seguinte passou a maior parte do dia separado do rebanho, deitado; comia bem a ração. No 3 ^o dia apresentou o mesmo quadro. No 4 ^o dia foi considerado recuperado	35 min.	3 dias	-	-
4904 (25104)	29	15.1.91	1,0	Morreu 1h e 30 min após início do exercício	Durante o exercício da manhã (2 ^o dia exp.) não queria correr; ao exercício forçado baliu muito, ficava em decúbito lateral, com dispnéia; colocado em pé, com tremores, desequilíbrio, deitava logo; morte	1 min.	2 horas	17 horas	Pulmões com leve congestão e edema. Petéquias na pleura visceral
4905	30	15.1.91	0,75	Sem sintomas	-	-	-	-	-
4906	29	15.1.91	0,5	Sem sintomas	-	-	-	-	-
4907 (25107)	17	16.1.91	1,0	Morreu no 5 ^o dia do experimento	Pela manhã (2 ^o dia exp.) antes do exercício previsto, foi encontrado em decúbito lateral, balindo; colocado em pé, teve fortes tremores gerais, não conseguia ficar em pé, assumindo o decúbito lateral; durante todo o dia mostrou esses sintomas. No 3 ^o dia do experimento ficou a maior parte do dia em posição esternal; anorexia. No 4 ^o dia do experimento com sintomatologia semelhante; à noite muito apático, ocasionais balidos. No 5 ^o dia do experimento amanheceu morto	-	3 dias	3 dias e meio	Porções iniciais do fleo com leve congestão difusa
4908 (25106)	16	16.1.91	0,75	Morreu no 3 ^o dia do experimento	Durante o exercício da manhã (2 ^o dia exp.) logo começou a balir e ficava em decúbito lateral, com fortes tremores da cabeça; colocado em pé, emitia balidos, tinha tremores gerais, mas logo ficava em decúbito esternal ou lateral; taquipnéia; mais tarde, principalmente em decúbito esternal. Durante o exercício à tarde do mesmo dia, nos do 3 ^o dia de manhã e à tarde e nos do 4 ^o dia de manhã e à tarde, sempre começou logo a balir, e ficava em decúbito esternal ou lateral e com forte taquicardia e arritmia. Após esse último exercício quando tocado de volta ao box, correu uns 20 m pelo corredor, caiu, ficou em decúbito lateral, fez movimentos de pedalagem e morreu dentro de 2 min.	1 min.	2 dias e meio	3 dias	Sem alterações
4909 (25105)	15	16.1.91	0,5	Morreu durante 1 ^o exercício	Durante o exercício da manhã (2 ^o dia exp.) começou logo a balir muito, deitava; ao exercício forçado, também baliu muito, ficava em decúbito lateral, com dispnéia, fez movimentos de pedalagem e morreu	9 min.	6 min.	15h 11 min.	Sem alterações

a O primeiro dia do experimento corresponde ao dia da administração da planta.

nos e especialmente nos ovinos. Uma manifestação adicional nos caprinos foram balidos freqüentes. A ocorrência de irido-ciclite descrita por Mello & Fernando (1941), não foi por nós observada em nenhum dos animais experimentais.

A exemplo do que ocorre em bovinos e ovinos, que morreram em consequência de administrações únicas, os achados de necropsia foram poucos e inconsistentes.

As alterações histológicas encontradas nos caprinos na intoxicação experimental por *P. elegans* também se parecem às observadas nos bovinos e ovinos intoxicados experimentalmente por *P. elegans* (Tokarnia et al. 1969, Consorte, dados não publicados). São também semelhantes às verificadas na intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* em caprinos (Tokarnia et al. 1991). No presente estudo se destacam 2 casos (Capr. 4907, 4908) pelas áreas de necrose no miocárdio, associadas à presença de macrófagos, em um adicionalmente à proliferação de fibroblastos. São os 2 animais cuja evolução da intoxicação foi mais prolongada (2 e meio e 3 dias respectivamente). Em um desses animais (Capr. 4907) havia também necrose tubular nos rins. Moderada a acentuada

necrose do miocárdio (mas sem presença de macrófagos e fibroblastos), rim e adicionalmente fígado foi também verificada na intoxicação por *Palicourea marcgravii* no caprino que teve a evolução mais longa (2 dias) (Tokarnia et al. 1991). De acordo com o que se tem observado na intoxicação pelas diversas plantas que causam "morte súbita", também na intoxicação por *P. elegans* em caprinos se observou, em 3 dos 8 casos, uma característica lesão renal sob forma de degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contornados distais.

REFERÊNCIAS

- Mello E.M.M. & Fernandes J.S. 1941. Contribuição ao estudo de plantas tóxicas brasileiras. Serv. Inf. Agrícola, Min. Agricultura, Rio de Janeiro. 106 p.
- Tavares M.I., Rezende A.M.L. & Döbereiner J. 1974. Intoxicação experimental por *Pseudocalymma elegans* em coelhos e cobaias. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet. 9:91-94.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J., Canella C.F.C. & Guimarães D.J. 1969. Intoxicação experimental por *Pseudocalymma elegans* (Vell.) Kuhl. em bovinos. Pesq. Agropec. Bras. 4:195-204.
- Tokarnia C.H., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 1991. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em caprinos. Pesq. Vet. Bras. 11(3/4):65-70.

COMPARAÇÃO ANTIGÊNICA DE TRÊS AMOSTRAS DE VÍRUS DA INFLUENZA EQUINA A/EQUI 2, ISOLADAS NO BRASIL¹

RAYMUNDO G. CUNHA² e MARIA DO CÉU CORREA PAGANO³

ABSTRACT.- Cunha R.G & Pagano M.C.C. 1993. [Antigenic comparison of three strains of equine influenza A/equi 2 virus isolated in Brazil.] Comparação antigênica entre três amostras de vírus A/equi 2 de influenza eqüina isoladas no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 13(1/2):41-44. Depto Patologia e Clínica Veterinária, Fac. Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rua Vital Brazil Filho 64, Niterói, RJ 24230-340, Brazil.

Three strains of A/equi 2 virus isolated during outbreaks of equine influenza observed in Brazil during 1969, 1985 and 1987 were compared antigenically, performing hemagglutination inhibition (HI) and serum neutralization (SN) tests. Hyperimmune rooster sera and post-infection 21-day-old chicken sera were used. The results of the tests showed minor differences among the strains studied. The two more recent strains (1985 and 1987) are closely related and both equally different from the 1969 one. This strain showed essentially no difference with the prototype strain (A/equi 2/Miami/1/63). The results suggest that a slight antigenic variation occurred in the hemagglutinin of A/equi 2 virus over the years 1969 to 1985.

INDEX TERMS: Equine influenza, hemagglutination, inhibition serum neutralization, brazilian strains.

SINOPSE.- Descreve-se um estudo comparativo das características antigênicas de três amostras de vírus de influenza equina (IE) A/equi 2, isoladas no Brasil em 1969, 1985 e 1987, utilizando-se as provas de inibição de hemoaglutinação (IHA) e soroneutralização (SN) em ovos embrionados. Soros de galos imunizados conforme técnica preconizada pela OMS e soros de pintos que sofreram infecção viral foram empregados. Os resultados dessas provas indicaram existir uma ligeira variação antigênica entre as amostras estudadas. As duas amostras mais recentes (1985 e 1987) estão estreitamente relacionadas e ambas igualmente distanciadas da amostra de 1969 que por sua vez se apresentou mais próxima da cepa protótipo do vírus - A/equi 2/Miami/1/63. Os resultados das provas de IHA são melhor evidenciados com os soros de pintos, sangrados 21 dias pós infecção, que apresentam títulos inibidores mais elevados. As provas de SN confirmaram os achados obtidos com IHA e como seus resultados são expressos em valores maiores, sua análise e interpretação ficam mais fácil de serem demonstradas. Em ambos os tipos de prova, os resultados obtidos sugerem que uma ligeira variação antigênica da hemaglutinina do vírus A/equi 2 ocorreu entre os anos de 1969 e 1985.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Influenza eqüina, inibição de hemoaglutinação, soroneutralização, amostras de vírus autóctones.

INTRODUÇÃO

Os vírus de influenza humana do tipo "A" apresentam alta variação antigênica que influi fortemente em sua epi-

demiologia e no uso preventivo de vacinas (Stuart-Harris & Schild 1976; Murphy & Webster 1985).

Em eqüídeos, dois subtipos já foram evidenciados: A/equi 1 (Sovnova et al. 1957) e A/equi 2 (Waddell et al. 1963), ambos encontrados no Brasil (Cunha 1970, Cunha et al. 1978).

Embora considerados antigenicamente estáveis (Easterday 1976), amostras de vírus isoladas em São Paulo (Pereira et al. 1972) e em Tokio (Kono et al. 1972) mostraram ligeira variação quando comparadas com a amostra protótipo A/equine/Miami/1/63 (H3N8), vírus A/equi 2. Não está esclarecido se esta leve variação poderia prejudicar a eficiência da vacina usada para prevenção da doença.

Julgamos de interesse verificar o comportamento antigênico das três amostras de vírus A/equi 2 que isolamos no Brasil, com vista a uma seleção da amostra mais adequada para elaboração de vacina. As experiências realizadas com esse propósito são apresentadas no presente trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

Cepas de Vírus

Três cepas de vírus pertencentes ao subtipo A/equi 2 (H3N8) foram usadas em nossos estudos: A/equi 2/GB/69, A/equi 2/RJ/85 e A/equi 2/MS/87. As duas primeiras, isoladas no atual estado do Rio de Janeiro (Cunha 1970, Cunha et al. 1986). A terceira amostra foi isolada do material coletado por veterinário do Ministério da Agricultura em surto da doença no Município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, em 1987. Estas cepas de vírus, mantidas no Laboratório em congelador a -60°C, sofrem

¹ Aceito para publicação em 6 de janeiro de 1993.

Trabalho realizado no Laboratório da Disciplina de Doenças Infecciosas, Depto Patologia e Clínica Veterinária, CCM, Univ. Fed. Fluminense (UFF), Rua Vital Brazil Filho 64, Niterói, RJ 24230-340.

² Professor Titular da UFF (Aposentado) e Bolsista do CNPq.

³ Bolsista do CNPq.

periodicamente uma passagem em ovo embrionado e o líquido alantóide infeccioso coletado é dividido em pequenos volumes e guardado no congelador para uso posterior.

Ovos embrionados

Ovos embrionados de 10 a 11 dias de incubação, provenientes de galinha Leghorn de criação própria ou granja comercial, com rígido controle sanitário, foram empregados nas experiências aqui relatadas.

Galos e pintos

Para preparo de soro imunes foram utilizados galos da raça Leghorn, com cerca de três quilos de peso, procedentes de granjas similares.

Os pintos eram provenientes dos retrodescritos ovos, eclodidos no Laboratório e criados em gaiola, sem contato com outras aves.

Soros imunes

Foram preparados soros imunes em dois galos para cada amostra de vírus, seguindo-se a técnica recomendada pela OMS (Lepine 1954). Os galos eram inoculados com líquido alantóide (LA) de título hemoaglutinante igual ou superior a 1:320, após centrifugação, recebendo cada ave 15 ml por via endovenosa e 10 ml por via intraperitoneal. Doze dias após a inoculação do vírus, efetuava-se a sangria dos galos para obtenção dos soros imunes. Estes eram inativados em banho-maria a 56°C durante 30 minutos, distribuídos em ampolas de 2 ml e guardados no congelador a -20°C.

Os LA utilizados nas imunizações correspondiam à 38ª passagem em ovo embrionado para a cepa A/equi 2/GB/69, à 17ª para a cepa A/equi 2/RJ/85 e à 14ª para a cepa A/equi 12/MS/87. Foi também utilizado o soro imune padrão A/equi/Miami/1/63, recebido do "Center for Disease Control (C.D.C.), Atlanta, E.U.A., bem como um soro imune conhecido para o subtipo A/equi 1/RJ/76.

Como em trabalho anterior (Cunha et al., no prelo) verificaram que soros de pintos que sofriam infecção por vírus A/equi/RJ/85 apresentavam títulos inibidores mais elevados, utilizamos, também, soros de pintos infectados com as cepas em estudo, inoculados posteriormente com um estímulo de reforço.

Prova de hemoaglutinação (HA)

A capacidade hemoaglutinante do líquido alantóide de ovos infectados com as cepas de vírus conhecidos foi investigada pela prova HA com eritrócitos de galinha a 0,5%. De modo geral, a técnica preconizada pela Organização Mundial de Saúde foi adotada. Diluições duplas do líquido em exame a partir de 1:5 e sucessivamente até 1:2.560 eram preparadas em salina de pH 7,2 - 7,4, com volume de 0,5 ml. A cada tubo agregava-se igual volume da suspensão de hemácias de galinha a 0,5%. Após agitação, os tubos eram mantidos à temperatura ambiente e a leitura final feita em torno de 60 minutos, na dependência dos controles.

Prova de inibição de hemoaglutinação (IHA)

Os soros imunes preparados por nós eram descongelados, colocando-se as ampolas em banho de gelo. O soro padrão, recebido do C.D.C. estava liofilizado e foi reconstituído com água destilada, conforme as indicações que o acompanhavam. De cada soro participante da prova eram preparadas diluições duplas a partir de 1:5 até uma diluição que se antecipava negativa, em volume de 0,25 ml para cada diluição. A cada tubo de diluição de

soro se juntava 0,25 ml de uma diluição de vírus, titulada minutos antes, contendo quatro unidades hemoaglutinantes.

A mistura soro + vírus era agitada algumas vezes no decorrer de 15 minutos, quando se agregava a cada tubo 0,5 ml da suspensão de hemácias de galinha a 0,5%. Tubos controles da suspensão de hemácias e da diluição de vírus eram incluídos em todas as provas e a leitura final feita da mesma maneira que para a prova de HA.

Os diferentes soros imunes foram examinados, em duplicata, frente a uma cepa de vírus na mesma oportunidade, considerando-se válida a prova em que os resultados se mostraram similares nas duas fileiras do mesmo soro.

Soro neutralização (SN)

Em tubos de hemólise estéreis, distribuíam-se 0,4 ml de soro diluído a 1:2, empregando-se seis tubos para cada soro. A cada tubo adicionava-se 0,4 ml da diluição de vírus desejada. Para os soros imunes conhecidos usaram-se diluições de 10⁻¹ a 10⁻⁶ e para soro normal e salina, diluições de 10⁻⁵ a 10⁻¹⁰. Depois de bem agitados os tubos, permanecia a mistura soro + vírus à temperatura ambiente por 15 minutos. Decorrido este período, eram as misturas inoculadas na cavidade alantoideana de ovos embrionados com 10 a 11 dias de incubação, 4 ovos para cada diluição de vírus. Para cada soro usou-se uma seringa, fazendo-se as inoculações da diluição menos concentrada para a mais concentrada em vírus.

Os ovos inoculados eram colocados na estufa a 37°C e examinados duas vezes ao dia, colocando-se em geladeira os encontrados mortos. Após 96 horas de incubação, os ovos restantes eram colocados em geladeira e, após resfriados, coletado o LA de todos os ovos inoculados. Os LA coletados eram examinados, individualmente, pela prova de HA e os resultados positivos considerados indicadores da presença de vírus.

Para cada soro imune, bem como para o controle de vírus em salina e soro normal, foi calculada a Dose Infectante 50% (DI50) pelo método de Reed & Muench, 1938.

A diferença de título infeccioso entre o grupo inoculado com soro imune e vírus e o grupo inoculado com solução salina e vírus proporcionava o índice de neutralização (IN).

RESULTADOS

Os resultados das provas de inibição de hemoaglutinação são apresentados no Quadro 1. Confirmam que as três amostras estudadas pertencem ao subtipo A/equi 2.

Entretanto, os títulos de IHA registrados revelam não existir uma completa identidade entre as amostras estudadas; sugerem que a amostra GB/69 está distanciada das outras duas isoladas respectivamente em 1985 e 1987.

Os resultados obtidos para estas duas últimas, RJ/85 e MS/87, indicam que ambas são mui aproximadas. Como os soros de pintos apresentam títulos mais elevados, esses achados tornam-se mais evidentes.

As provas de soroneutralização (Quadro 2) confirmaram os resultados das IHA, isto é, uma maior aproximação entre RJ/85 e MS/87, as amostras mais recentes, e ambas igualmente distanciadas da cepa GB/69, a mais antiga.

Como os resultados de SN são expressos em valores maiores, variando numa faixa de 1.000 a 1.000.000, essas diferenças tornam-se mais evidentes.

Quadro 1. Resultados das provas de inibição de hemoaglutinação (IHA) entre soros imunes e as amostras nacionais de vírus A/equi 2

Soros imunes	Títulos de IHA de soros imunes frente aos vírus		
	Eq 2/GB/69	Eq 2/RJ/85	Eq 2/MS/87
<i>Soros de galos</i>			
A/equi 2/Miami/63 ^a	320 ^b	80	160
A/equi 2/GB/69	640	320	320
A/equi 2/RJ/85	160	640	640
A/equi 2/MS/87	160	320	640
A/equi 1/RJ/76	0 ^c	0	0
<i>Soros de pintos PJD</i>			
A/equi 2/GB/69	2560	640	640
A/equi 2/RJ/85	320	5120	1280
A/equi 2/NS/87	320	1280	2560

^a Soro Miami/63 recebido do C.D.C. Atlanta, USA.

^b Diluição mais alta de soro inibindo 4 unidades hemoaglutinantes.

^c A/equi 1/RJ/76 (H7N7), resultados negativos na diluição 1:10 e superiores.

^d Soro de pintos pós-infecção e hiperimunização.

Quadro 2. Resultados das provas de soroneutralização (SN) realizadas com soros imunes e as amostras nacionais de vírus A/equi 2

Soros imunes	Índices de neutralização conferidos pelos soros imunes de galos frente às amostras de vírus		
	Equi 2/GB/69	Equi 2/RJ/85	Equi 2/MS/87
A/equi 2/Miami/63	5,00 ^a	3,00	3,34
A/equi 2/GB/69	5,33	3,50	3,00
A/equi 2/RJ/85	3,33	5,50	5,0
A/equi 2/MS/87	3,67	5,00	6,0

^a Valor logarítmico do n° de DI50% neutralizadas.

DISCUSSÃO

Tanto na influenza humana como na suína e aviária, produzidas por vírus de tipo "A", registra-se uma alta variação antigênica dos vírus atuantes. Esta variação antigênica está assentada em duas glicoproteínas que o virion possui na membrana externa: a hemaglutinina (HA) e a neuraminidase (NA). Até o presente foram reconhecidas 13 distintas HAs e 9 diferentes NAs (Murphy & Webster 1985; Easterday & Hinshaw 1990).

Os vírus de influenza equina (A/equi 1 e A/equi 2) foram considerados estáveis (Easterday 1975). Pereira et al. (1972) encontraram ligeira variação antigênica entre as amostras recém-isoladas e a cepa protótipo A/equi 2/Miami/1/63. Esta diferença foi evidenciada pelo uso de soro imune de furão, infectado com uma amostra de vírus autóctone. Soros imunes de galos não mostraram essa variação. No surto do Japão, Kono et al. (1972) verificaram que as amostras isoladas eram estreitamente relacionadas com a cepa Miami, mas não idênticas. Soros de cavalos convalescentes, bem como soros imunes de galos, dão títulos de inibição mais altos com as amostras homólogas, autóctones, do que com a cepa Miami. Não dispusemos de furão, mas os soros de pintos que sofreram infecção pelo vírus, e que usamos, apresentaram altos títulos inibidores, sugerindo que o importante é a replicação viral nas células do animal infectado, o que aumentaria o estímulo antigênico.

No presente trabalho, não tivemos como objetivo verificar a semelhança das amostras nacionais com o protótipo A/equi 2/Miami/1/63 e sim investigar se as amostras que isolamos em 1969, 1985 e 1987 eram idênticas ou, se nos 18 anos de intervalo, o vírus atuante havia adquirido outras características antigênicas.

Os resultados que obtivemos nas provas de IHA indicam que as duas últimas amostras (1985 e 1987) estão estreitamente relacionadas e ambas se distanciam, da cepa de 1969 que, por sua vez, se mostra muito próxima da cepa protótipo.

Embora há vários anos tenha sido registrado que os anticorpos inibidores de HA e os neutralizantes do vírus sejam idênticos (Hirst 1942) usamos a prova de soroneutralização como contraprova ou confirmação dos resultados obtidos com IHA na qual inibidores inespecíficos podem mascarar os resultados finais. Contudo, em caráter experimental, ela continua sendo usada, como nas experiências de Maess & Mussgay (1968), para avaliar a proteção de vacinas contra os vírus de IE.

Powell et al. (1974) ao estudarem um surto de IE na Inglaterra, causado pelo subtipo A/equi 1, encontraram uma leve variação antigênica entre as amostras isoladas e o protótipo A/equi 1/Praga/1/56. A despeito de que equinos vacinados tenham se mantido indenes, os autores levantam a questão da conveniência de incluir as amostras recém-isoladas, atuantes, na elaboração de vacinas. Esta dúvida foi também um dos motivos de estudarmos as três amostras nacionais e as mais recentes parecem mais indicadas para serem usadas na preparação de vacinas.

Agradecimentos.— Os autores expressam seus agradecimentos ao Departamento de Virologia do Instituto Oswaldo Cruz, pela gentileza da doação de parte dos ovos embrionados; ao laboratorista Algemiro Rodrigues pela ajuda no preparo do material de laboratório e cuidados dispensados aos animais no decorrer das presentes experiências.

REFERÊNCIAS

- Cunha R.G. 1970. Isolamento de amostras do vírus da influenza equina A/equi 2 no Estado da Guanabara. *Revta Bras. Biol.* 30(4):491-498.
- Cunha R.G., Passos W.S. & Valle M.C.C. 1978. Surto de gripe equina produzido por vírus de influenza A/equi 1 no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revta Bras. Biol.* 38(3):549-554.
- Cunha R.G., Passos, W.S., Pagano, M.C.C. & Souza, D.M. 1986. Surto de gripe equina produzido por vírus de influenza A/equi 2 no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revta Bras. Med. Vet.* 81(3):88-91.
- Easterday B.C. 1975. Animal Influenza, p. 449-481. In: Kilbourne E.D. (ed.) *The Influenza Viruses and Influenza*. Academic Press, New York. 573 p.
- Easterday B.C. & Hinshaw V.S. 1990. Avian Influenza, p. 532-551. In: Chalnek B.W. (ed.) *Diseases of Poultry*. State Univ. Press, Ames, Iowa, USA. 929 p.
- Hirst G.K. 1942. Citado por Smadel, J.E. 1948. Serologic reactions in viral and rickettsial infections, p. 67-76. In: Rivers T.M. (ed.) *Viral and Rickettsial Infections of Man*. J.B. Lipincott, Philadelphia, USA. 587 pp.
- Kono Y., Ishikawa K., Fukunaga Y. & Fujimo M. 1972. The first outbreak of equine influenza in Japan. *Natl Inst. Anim. Hlth Quart.* 12:183-187.
- Lepine P. 1954. Laboratory methods in the study of influenza virus, p. 87-124. In: *Influenza, a review of current research*. Wld Hlth Org. Monogr. Series n° 20, Genève.
- Maess J. & Mussgay M. 1968. Du potentiel antigenique de produits de clivage des virus du type Influenza A-equi. *Bull. Off. Int. Epizooties* 70:123-131.

- Murphy B.R. & Webster R.G. 1985. Influenza viruses, p. 1179-1239. In: **Fields B.N.** (ed.) *Virology*. Raven Press, New York.
- Pereira H.G., Takimoto S., Piegas N.S. & Valle L.A.R. 1972. Antigenic variation of equine (Heq 2 Neq 2) influenza virus. Bull. Wld Hlth Org. 47:465-469.**
- Powell D.G., Thomson G.R., Spooner P., Plowright W., Burrows R. & Schild G.C. 1974. The outbreak of equine influenza in England April/May 1973. *Vet. Rec.* 94:282-287.
- Reed L.J. & Muench H. 1938. A simple method of estimating Fifty Percent Endpoints. Am. J. Hyg. 27:493-497.**
- Sovinova O., Tumova B., Poutska F. & Nemecek J. 1958. Isolation of a virus causing respiratory disease in horses. *Acta virologica, Praga*, 2:52-61.
- Stuart-Harris C.H. & Schild G.C. 1976. *Influenza. The Viruses and the Disease*. Edward Arnold, London. 242 p.
- Waddell G.H., Teighland M.B. & Siegel M.N. 1963. A new influenza virus associate with equine respiratory disease. *J. Am. Vet. Ass.* 143:587-590.