

ISSN 0100-736X

Volume 15 Números 2/3

Abr/Set 1995

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Brazilian Journal of Veterinary Research



Revista do Colégio Brasileiro de Patologia Animal

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, revista bilíngüe 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 preparados 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. Arteché, 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; Fax (021) 682-1109.

A revista é editada dentro do



em colaboração com o
Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

- revista editada pelo Colégio Brasileiro de Patologia Animal

A Brazilian Journal of Veterinary Research published by the Brazilian College of Animal Pathology

Volume 15

Abril/Setembro 1995

Números 2/3

SUMÁRIO

“Doença do peito inchado”, Tetrapterys spp. poisoning, brisket disease and St. George disease: a comparative study. [“Doença do peito inchado”, intoxicação por Tetrapterys spp., “brisket disease” e “St. George disease”: um estudo comparativo.] <i>P.V. Peixoto, A.P. Loretti & C.H. Tokarnia</i>	43-50
Fatores que influenciam a toxidez de Baccharis coridifolia (Compositae): um estudo experimental em coelhos. <i>R.L. Rodrigues & C.H. Tokarnia</i>	51-69
Carun petroselinum (Umbelliferae) é tóxica para coelhos? <i>M.F. Brito</i>	71-72
Substâncias com atividade similar à vitamina D₃ em quatro plantas calcinogênicas. <i>J.R.B. Mello & G. Habermehl</i>	73-78
Estudo comparativo da toxidez de Lantana camara var. aculeata (Verbenaceae) em bovinos e ovinos. <i>M.F. Brito & C.H. Tokarnia</i>	79-84
Características microbiológicas da água utilizada no processo de obtenção do leite. <i>L.A. Amaral, A. Nader Filho, O.D. Rossi Junior & L.H.C. Penha</i>	85-88

CONTENTS

“Doença do peito inchado”, Tetrapterys spp. poisoning, brisket disease and St. George disease: a comparative study. <i>P.V. Peixoto, A.P. Loretti & C.H. Tokarnia</i>	43-50
Factors which influence the toxicity of Baccharis coridifolia (Compositae): an experimental study in rabbits. <i>R.L. Rodrigues & C.H. Tokarnia</i>	51-69
Is Carun petroselinum (Umbelliferae) poisonous to rabbits? <i>M.F. Brito</i>	71-72
Vitamin D₃-like activity in four calcinogenic plants. <i>J.R.B. Mello & G. Habermehl</i>	73-78
A comparative study on the toxicity of Lantana camara var. aculeata (Verbenaceae) in bovines and ovines. <i>M.F. Brito & C.H. Tokarnia</i>	79-84
Microbiological characteristics of the water used in the milk production process. <i>L.A. Amaral, A. Nader Filho, O.D. Rossi Junior & L.H.C. Penha</i>	85-88

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.

Copyright® 1981 Colégio Brasileiro de Patologia Animal

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

1. 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)

Publicidade: Neotécnica Editora Ltda, Av. Passos 115, s/501
20051-040 Rio de Janeiro, RJ; tel./fax: (021) 263-7561

XV PANVET - Congresso Panamericano de Ciências Veterinárias, Campo Grande, Mato
Grosso do Sul, Brasil, 21-25.10.1996

(Comissão Organizadora: Av. Afonso Pena 2386, Ed. Dolor de Andrade, 8º andar, sala 84,
Campo Grande, MS 79002-074; Tel. (067) 724-7071, Fax. (067) 724-4877)

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, 23851-970 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 Conselho 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 fascículo 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 apresentados em uma só face do papel, em espaço duplo e com margens de, no mínimo, 2,5 cm; o texto será escrito corriadamente; 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 corriadamente 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 das respectivas referências, 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 fascículo 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 agrupamento 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 curto, à esquerda.

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

**“DOENÇA DO PEITO INCHADO”, *Tetrapteryx* spp.
POISONING, BRISKET DISEASE AND ST. GEORGE DISEASE:
A COMPARATIVE STUDY¹**

PAULO VARGAS PEIXOTO², ALEXANDRE PAULINO LORETTI³ e CARLOS HUBINGER
TOKARNIA⁴

	Página
Abstract	1
I. Introduction	2
II. Results	3
III. Discussion	3
A) Epidemiology	3
B) Clinical manifestations	4
C) Necropsy findings	4
D) Histological alterations	5
IV. Conclusion	6
Referências	7

SINOPSE.- Peixoto P.V., Loretto A.P. & Tokarnia C.H. 1995. [**“Doença do peito inchado”, intoxicação por *Tetrapteryx* spp., “brisket disease” e “St. George disease”: um estudo comparativo.**] “Doença do peito inchado”, *Tetrapteryx* spp. poisoning, brisket disease and St. George disease: a comparative study. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 15(2/3):43-50. Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970, Brazil.

Através de revisão de literatura, os principais dados epidemiológicos e patológicos da “doença do peito inchado” (DPI), enfermidade de etiologia obscura que ocorre em bovinos no sul do Brasil, são comparados, em virtude de suas similaridades clínicas, com aqueles observados na intoxicação por *Tetrapteryx* spp. (TP), “brisket disease”(BD) e “St. George disease” (SGD). Verifica-se que, epidemiologicamente, a DPI assemelha-se um pouco com a BD, em virtude de ambas ocorrerem em determinadas altitudes. Por outro lado, é provável que a hipóxia crônica secundária à altitude não tenha participação importante na patogenia da DPI, como acontece na BD. A SGD e a TP, causadas por ingestão de plantas, apresentam dados epidemiológicos próprios. Do ponto de vista clínico, as quatro enfermidades são semelhantes. Entretanto, a SGD pode ser diferenciada em função do edema subcutâneo ser mais proeminente na região submandibular e face, enquanto que, à auscultação do coração de animais afetados pela DPI, observa-se o típico “ritmo de galope”. À necropsia, a TP é bastante distinta das demais enfermidades, em virtude das lesões do miocárdio serem bem visíveis, ao passo que o hidrotórax é um achado importante na SGD. O exame histológico do coração e do fígado permite diferenciar com facilidade as quatro doenças. A acentuada fibrose intersticial do miocárdio é característica da DPI, enquanto que na TP predominam largamente as alterações degenerativo-necróticas; a SGD e a BD não cursam com lesões histológicas significativas no miocárdio. Por outro lado, a lesão hepática na SGD é típica (peliosis hepatis) e difere do “fígado cardíaco” observado na BD e na DPI. Conclui-se que a DPI é uma doença com características próprias e que, portanto, deve ter uma etiologia diversa das outras três enfermidades.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: “Doença do peito inchado”, intoxicação por *Tetrapteryx* spp., “brisket disease”, “St. George disease”, bovinos, estudo comparativo.

¹ Accepted for publication on December 12, 1994.

²Depto Epidemiologia e Saúde Pública, Setor de Anatomia Patológica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Km 47, Seropédica, RJ 23581-970, Brazil; bolsista do CNPq (302342/86-9).

³Curso de Graduação em Medicina Veterinária, UFRRJ.

⁴Depto Nutrição Animal e Pastagem, UFRRJ; bolsista do CNPq (305010/76-VT).

ABSTRACT.- This review compares the epidemiology and pathology of the following four diseases in cattle: 1) The “doença do peito inchado” (DPI) - a disease of unknown etiology that occurs in southern Brazil, 2) *Tetrapteryx* spp. poisoning (TP), 3) brisket disease (BD), and 4) St. George disease (SGD). All four diseases are of similar clinical appearance. DPI bears some resemblance to BD in its epidemiology, both being associated with

certain high altitude environments. However chronic hypoxia related to high altitudes probably can not be considered an important etiological factor in the pathogenesis of DPI as it occurs in BD, the so-called high-mountain disease. SGD and TP have their own epidemiological features associated with the ingestion of poisonous plants.

It is possible to distinguish clinically SGD from the other diseases by the marked subcutaneous edema of the submandibular and facial regions of affected cattle. The auscultation of the heart reveals a typical sound of "gallop rhythm" that distinguishes DPI. TP differs widely from the other diseases in showing gross lesions in the myocardium at necropsy. Hydrothorax is regarded as an important post-mortem finding in SGD. Histological examination of heart and liver also separates the four diseases easily. A marked and diffuse interstitial fibrosis of the myocardium is characteristic of DPI, whilst degenerative-necrotic changes predominate in TP. No significant microscopic heart lesions occur in SGD and BD. However, SGD presents a specific liver lesion, "peliosis hepatis", that differs from the "cardiac liver" observed in BD and DPI. So it can be concluded that DPI is a disease of yet unknown etiology, as it differs clearly from the other three diseases.

INDEX TERMS: "Doença do peito inchado", *Tetrapteryx* spp. poisoning, brisket disease, St. George disease, cattle, comparative review.

I. INTRODUCTION

The authors received information during the last 11 years about the occurrence of an unknown disease affecting mainly cattle in the State of Santa Catarina in southern Brazil. The disease manifests itself as a chronic heart insufficiency and is referred to as "doença do peito inchado" (DPI), translated "swollen brisket disease", because the affected animals develop a pronounced subcutaneous edema of the sternal region (Tokarnia et al. 1989b). In southeastern Brazil, another disease in cattle has been reported a few years ago as being associated with the ingestion of poisonous plants of the genus *Tetrapteryx* (Tokarnia et al. 1989a). Both diseases share some common clinical and pathological features. The investigation of DPI in southern Brazil revealed its epidemiological, clinical, macro- and microscopical aspects, however the etiology remains unclear. Using a literature survey and contacts with pathologists from the countries where clinical cases of St. George disease (SGD) and brisket disease (BD) have been reported and appear to have some aspects in common with the two Brazilian diseases, we have tried to gather all available information to differentiate the four diseases and to elucidate the etiology of DPI.

II. RESULTS

The data found in the literature are summarized in Table 1 to 4 according to the epidemiology, clinical pictures, post-mortem and histological changes seen in the four diseases.

III. DISCUSSION

A) Epidemiology

The epidemiological aspects of DPI differ widely from those of the other four diseases. It is the only one to affect spontaneously cattle and horses, especially cows over 3 years of age. Only the incidence of DPI has been reported to be higher during gestation and after calving. DPI has

been recognized in animals grazing in high areas from 1100 to 1400 m, whereas TP occurs at lower altitudes from 200 to 700 m. The altitude does not influence the occurrence of TP and the disease can be produced successfully by experimentation at altitudes of only 50 m. SGD has frequently been reported at sea level. Most reports of BD refer to animals maintained above 2000 m, although some cases have been reported below 1600 m (Jensen et al. 1976, Bisgard 1977, Alexander 1978) and down to 1200 m (Blake 1967). As DPI only occurs between 1100 and 1400 m, we thought that the disease could be caused by the ingestion of a toxic plant. Many feeding experiments with suspected plants from the area have been carried out without success. Some trials are still in progress.

It is well established that chronic respiratory hypoxia has a great influence on the pathogenesis of BD. It could be considered as the essential etiological factor for the disease to develop, although other causes such as moisture and poisonous plants (*Senecio* and locoweed) might be involved. However plants of the genera *Pimelea*, *Tetrapteryx* and *Senecio* that might be related to DPI were not found in the area. *Senecio brasiliensis* and *S. desiderabilis* which occur in the region were found to induce liver cirrhosis in cattle.

The degree to which chronic hypoxia influences the etiology of DPI has not been established yet. Some animals referred to a veterinary hospital situated at an altitude of 900 m were seen to recover partially. This might have been due to reduced physical exercise compared to the great effort required when grazing animals search for food on steep slopes. Moreover, they were better fed in the hospital.

TP may occur throughout the year, whilst SGD is more prevalent during dry periods. DPI and BD have a seasonal incidence however the season of highest prevalence is very different. It is useful to consider other factors such as morbidity and mortality rates to distinguish DPI from the other three diseases. Furthermore, the length of time animals need to stay in the region of occurrence to develop the disease and show clinical symptoms may also help the diagnosis. In DPI, animals require at least 2 years in the area to develop the disease whilst in SGD this period is less than 72 hours. TP onset is seen after 8 weeks in the area, and 10 weeks are necessary for animals to show the classical symptoms of BD. Only animals affected by DPI occasionally partially recover from the clinical illness if removed in time from the enzootic area. DPI, BD and SGD do not induce females to abort but TP does. It is interesting to mention that aborted fetuses show the same cardiac lesions seen in adult animals affected by TP.

B) Clinical manifestations

Marked distention and pulsation of the jugular vein is a common clinical sign often observed in all four diseases. Cardiac arrhythmia is more frequent and intense at DPI than in BD and TP. In DPI, auscultation of the heart frequently reveals a characteristic "gallop rhythm". This change in the heart rhythm is not reported in the other three diseases.

Table 1. A comparison of the major epidemiological aspects of "doença do peito inchado", *Tetrapterys* spp. poisoning, brisket disease and St. George disease

Epidemiological aspects	"Doença do peito inchado"	<i>Tetrapterys</i> spp. poisoning	Brisket disease	St. George disease
Animal species naturally affected	Cattle and probably horses (42) ^a	Only cattle (41,42)	Mainly cattle (4,5,9,17), also sheep in some regions (8 cit. 1, 8 cit. 6, 8 cit.31)	Only cattle (13,16) and perhaps sheep (16)
Age of animals when attacked	Only animals older than 3-4 years (42)	Only animals older than 1 year (41, 42)	Animals under 1 year of age or in older cattle (4, 22, 36)	All ages (27), 7-24 months (14); above 4 months (Seawright, pers. comm.)
Animals particularly affected	Especially cows during gestation and after calving, also older oxen (42)	Any bovine (41, 42)	Any bovine (1, 2, 4, 5, 6, 7, 18, 20, 22, 23, 28, 32, 36, 43)	Any bovine (27); lactating cows more frequently affected than dry cows (14)
Altitudes at which the clinical signs occur	Only at 1100-1400m (42)	200-700m (41)	Usually above 2,000m (1, 2, 6, 7, 9, 36); occasionally below 1,600m (4, 5, 23, 36)	At sea level (Seawright, pers. comm.)
Season in which the disease is more prevalent	Mainly in spring and summer (42)	Throughout the year (41)	Mainly in autumn and winter (1, 5, 23, 36)	Any season (14), especially during dry periods (10, 16)
Morbidity rate	Invariably above 50% (42)	Inconstant (41)	Usually from 0.5 to 2.0% (1, 4, 5, 20, 23), occasionally reaching as high as 5-10% (1, 5, 20, 23)	High, 100% (14), usually from 20 to 50% (10)
Mortality rate of animals that stay in the area	Under natural conditions 100% (42)	Usually high (41)	High, 100% (28)	Many deaths reported (14)
Period of time required for the disease to develop	At least 2 years in the area (42)	Usually from 1 to 2 months in the area (41)	Less than 7 days to 10 weeks (20, 23, 36)	Between 40 and 72 hours (14, 25) to 12 days (19)
Course of the disease	Usually subacute to chronic (42)	Usually subacute to chronic (41)	From 1 to 12 weeks (1, 5)	Several days (14)
Recovery if removed from the area	Some animals show partial recovery (42)	Some animals show recovery (41)	Many animals show recovery if moved to lower altitudes (1, 5, 7, 17, 20, 28, 36)	Many animals recover (37), also chronic cases usually recover (14, 19)
Effects on gestation	Does not induce abortion (42)	Many abortions (41)	No description	No description

^a The numbers in parenthesis indicate the references.

Similarly respiratory distress has been reported in DPI and BD but not in SGD. All four diseases occasionally may cause "sudden death". Profuse diarrhea may be present during the course of all diseases but with different frequencies. Anemia is known to be a common finding in DPI and SGD. In SGD, pronounced subcutaneous edema starts in the submandibular and facial regions whilst in DPI, BD and TP severe edematous swelling begins in the sternal region.

C) Necropsy findings

Dilatation of the heart is an occasional post-mortem finding in TP, but is very common in the other three diseases. Cardiac hypertrophy has been reported only in BD. In TP the cut surface of the myocardium reveals a change in colour from pale red to whitish. However in DPI similar changes are noted in cross sections of the heart, but they are ill-defined and not as conspicuous as in TP to the point that they could even pass unnoticed. Studies on BD and

Table 2. A comparison of the major clinical signs seen in "doença do peito inchado", *Tetrapteryx* spp. poisoning, brisket disease and St. George disease

Clinical signs	"Doença do peito inchado"	<i>Tetrapteryx</i> spp. poisoning	Brisket disease	St. George disease
Distention and pulsation of the jugular vein	Invariably present (42)	Occasionally seen (26%) (41, 42)	Usually present (1, 2, 5, 20, 28, 36)	Frequently observed (8, 11, 12, 14, 16, 24, 26, 27)
Cardiac arrhythmia	Frequent, 80% (42)	Occasionally seen, 26% (41, 42)	Present (18, 29)	No description
Respiratory distress	Dyspnoea on exertion (42)	Dyspnoea in terminal stages, labored breathing (41)	Dyspnoea on exertion (20, 36, 43), labored breathing (1, 5, 18, 22, 28)	Severe dyspnoea in chronic cases (24), shallow and rapid breathing (16)
Sudden death	Rarely, on exertion (42)	Rarely, on exertion (41)	It may occur on exertion (1, 5)	It may occur on exertion (14, 27)
Diarrhea	Usually present, 80% (42)	Occasionally seen, 33% (42)	Usually present (1, 2, 4, 5, 18, 20, 28, 36)	Frequently seen (12, 14, 27, 33, 37)
Anemia	Frequently present, 60% (41, 42)	Not present (41)	Not present (14, 17) or only seen rarely (19)	Frequently (37) or invariably present (13, 24, 25, 27, 29)
Primary site of subcutaneous edema	Sternal region (41, 42)	Sternal region (41, 42)	Sternal region (1, 5, 20, 36)	Submandibular space and head (12, 14, 16, 24, 26, 33)

SGD do not describe changes in cross sections of the myocardium although some authors mention flaccidity of the cardiac muscle. DPI and SGD produce severe liver lesions consisting essentially of hepatomegaly due to chronic passive congestion. Subcutaneous edema has already been compared in the previous section on clinical aspect. Cavitory effusions are present in all four diseases but is slightly less common in TP. Ascitis is more pronounced in DPI and BD whereas hydrothorax develops with greater intensity in SGD. In DPI and TP, edema is normally present in the same organs, affecting the mesentery, the folds of the abomasum, the gallbladder wall and the skeletal muscles, in order of decreasing frequency. In BD, edema is said to be confined to the mesentery and digestive tract walls, whilst there is localized edema in the lungs, abomasum and intestines.

D) Histological alterations

Histological examination of the heart reveals important differences between the four diseases. In DPI, microscopical lesions show mild regressive changes characterized by

diffuse interstitial fibrosis. In addition, very large unusual multinucleated cardiac fibers are occasionally observed in some of the affected animals. According to Stunzi & Teuscher (1970), the same kind of cells are also present in other diseases, e.g. white muscle disease, "Plötzlicher Herztod" (sudden death of piglets) and "Kardiopathie der Kamele" (cardiomyopathy of camels), in which they are described as "giant myogenic cells". The same authors feel that this type of cell could be explained as "Regenerationserscheinungen" (evidence of regeneration). In animals affected by TP, degenerative-necrotic changes in the heart muscle are more pronounced and there is diffuse interstitial fibrosis of the myocardium. The fibrosis may also be widespread or surround necrotic areas. There are only a few reports mentioning microscopical cardiac changes in BD. Sera & Jensen (1955) and Blake (1965) examined the muscle fibers of hearts from animals with BD histologically. Their morphometrical studies revealed hyperplasia rather than hypertrophy of cardiac myocytes in the affected hearts. These findings contribute to the hypothesis that atypical cells seen in DPI and TP are due to attempts of

Table 3. A comparison of the major post-mortem findings seen in "doença do peito inchado", *Tetrapterys* spp. poisoning, brisket disease and St. George disease

Post-mortem findings	"Doença do peito inchado"	<i>Tetrapterys</i> spp. poisoning	Brisket disease	St. George disease
Cardiac dilatation	Frequently seen (42)	Exceptionally seen (41, 42)	Present (1, 2, 4, 6, 9 cit. 1, 13, 17 cit. 18, 22, 23, 36, 43)	Present (12, 13, 24, 27, 34, 37)
Cardiac hypertrophy	Not present (42)	Not present (41, 42)	Present (1, 2, 4, 6, 9 cit. 1, 13, 17 cit. 18, 22, 23, 30, 32, 43)	No description
Other cardiac gross changes	White-greyish ill-defined areas on the cut surface of the myocardium (42)	Pallid areas in the heart muscle seen through the epicardium; sharp whitish areas and streaks across most of the cut surface of the myocardium (41)	Flaccidity of the heart (9 cit. 1, 17 cit. 18)	Flaccidity of the heart (14, 16, 37)
Liver lesions	Hepatomegaly, chronic passive congestion (42)	Mild or not present (41, 42)	Hepatomegaly (5, 17 cit. 18, 22, 23) and passive congestion (1, 2, 4, 5, 22, 36, 42)	Hepatomegaly (14, 24, 27, 33, 37) and mottled liver on cut surface (13, 14, 24, 37)
Subcutaneous edema	In the sternal region (brisket) exceptionally extending down to the umbilical region and forwards to the intermandibular space (42)	In the sternal region (brisket) exceptionally extending forwards and backwards (41, 42)	In the sternal region, extending forwards (1, 20, 22) and backwards (1, 22, 36)	In the intermandibular space (14, 16, 24) and head (24), it may extend up to the umbilical region (24, 37)
Cavitary effusions	Ascitis (100%) (42) and hydrothorax (60%) (42)	Ascitis (50%) (41,42) hydrothorax (50%) (41, 42)	Ascitis (30) and hydrothorax (20, 43) frequently seen (1, 12, 22, 36)	Ascitis and hydrothorax (16, 26, 27, 29) frequently seen (13, 23, 24, 37), hydrothorax more pronounced than ascitis (10, 11, 13, 19)
Edema in other organs	Mesentery, folds of the abomasum, gallbladder wall, skeletal muscles (42)	Mesentery, folds of the abomasum, gallbladder wall, skeletal muscles (41, 42)	Mesentery, digestive tract wall, skeletal muscles (1), folds of the abomasum (22), mucous membranes of the abomasum and small intestine (23)	Mild edema of the abomasal wall (14, 37), intestines (37) and lungs (10)

regeneration. Epling (1968) studied the ultrastructural aspects of the myocardium from animals suffering from BD and described the following changes: intracellular edema, rupture of myofibrils, sarcoplasmic reticulum and mitochondria, and edema, granulation and hyalinization of the en-

dothelial cells of the myocardium. Individual necrosis of the cardiac muscle fibers accompanied by histiocytes and lymphocytes are occasionally seen in SGD (Seawright & Francis 1971). They are distinctly different from the lesions seen in DPI and TP. In DPI, microscopical lesions in the

Table 4. A comparison of the major histological alterations seen in "doença do peito inchado", *Tetrapteryx* spp. poisoning, brisket disease and St. George disease

Histological alterations	"Doença do peito inchado"	<i>Tetrapteryx</i> spp. poisoning	Brisket disease	St. George disease
HEART				
Degeneration and lysis of the fibers	Mild, but constant (42)	Severe (41) and frequent (42)	Not present	Not present
Massive necrosis	Not present (42)	Severe and occasionally seen in natural cases, mild and rarely seen in experimental cases (41)	Not present	Individual necrosis of the fibers
Interstitial areas of fibrosis	Severe, diffuse, constant (42)	Mild to moderate, diffuse, frequently seen (41), focal (42)	Not present	Not present
Extensive areas of fibrosis	Not present (42)	Severe, frequently seen in natural cases; mild, rarely seen in experimental cases (41)	Not present	Not present
LIVER				
Primary centrolobular congestion	Severe, diffuse, constant (42)	Usually mild to moderate (42), moderate to severe in natural cases (41)	Not present	Not present
Fibrosis in the portal triads	Always found, mild (42)	Mild, occasional in natural cases (41), frequent in natural cases (42), absent in experimental cases (41)	Severe (36)	Not present
Centrolobular fibrosis	Not present in cattle but in horses (42)	Mild, occasional in natural cases (41), absent in experimental cases (41), frequent in natural cases (42)	Present (36)	Not present
Peliosis hepatis	Not present	Not present	Not present	Always present (37)
LUNGS				
Medial thickening of the pulmonary arteries and arterioles	Not present	Not present	Present according to most of the authors (4, 5, 7, 22, 30), prominent (4)	Not present
Epithelialization	Seen in 20% of the cases (42)	Not present	Not present	Not present
Failure cells	Many cells present in 20% of the cases (42)	Not present	Not present	Always present (24)

liver are very similar or identical to those in BD since both are attributed to chronic cardiac insufficiency. They are characterized mainly by passive congestion, primarily periarterial, sometimes with an increase in connective tissue

in the portal triads. Periarterial passive congestion and fibrosis are occasionally observed in TP, although they are much less intense. Histologically, the hepatic lesions seen in SGD differ widely from those seen in the other three

diseases. Microscopic examination of the liver shows dilatation of the sinusoids, especially in the centro-acinar zones. Seawright & Francis (1971) stated that these lesions were comparable to "peliosis hepatis" previously described in man.

In the lungs, epithelialization accompanied by mild fibrosis and the presence of "failure cells" were observed only in one of the animals affected by DPI. However, no noteworthy lesions were seen in the other cases. In TP, mild alveolar congestion and edema are occasionally seen. Muscular hypertrophy of the media of the pulmonary arteries and arterioles was not found in either disease, although there are claims that it has been seen elsewhere in BD (Hull & Anderson 1978). However other investigators (Hecht et al. 1959, Kuida et al. 1963) were also unable to find medial hypertrophy of the arteries in animals affected by BD. They believe that there is a contraction of the arterioles, but it is insufficient to cause hypertrophy of the blood vessels. Previous reports on SGD mentioned alveolar septal thickening, erythrophagocytosis and siderosis as well as compressive atelectasis (Kelly & Seawright 1978).

IV. CONCLUSION

It can be concluded from the epidemiological data that DPI differs markedly from the other three diseases. However a comparison of the clinical features shows that DPI is similar to BD. So it is difficult to distinguish them clearly using clinical information without considering the location. Perhaps the so-called "gallop rhythm" heart sound detected on auscultation of animals affected by DPI could be used to separate it from BD. There are also many points of clinical similarity between TP, DPI and BD. However it is possible to distinguish SGD from the other diseases by considering the clinical evidence, especially the primary site of the subcutaneous edema. With reference to the macroscopical pathology, DPI, BD and SGD are very similar. SGD can be differentiated again from the other diseases by the initial site of the subcutaneous edematous swelling. The marked cardiac lesions and the moderate hepatic changes present at necropsy distinguish TP. Histologically, the four diseases are distinct from one another. Both, DPI and TP, show severe cardiac lesions although these are quite different from each other. In BD noteworthy microscopical changes in the heart are not present whilst in SGD cardiac lesions are characterized by individual necrosis of the muscle fibers accompanied by inflammation. The liver lesions seen in DPI and BD are very similar and hardly to distinguish from each other, whereas those observed in SGD (peliosis hepatis) are easily differentiated from the lesions present in DPI and BD. In naturally occurring cases of TP, periacinar congestion is occasionally seen, but is much less intense than that seen in DPI and BD.

A comparison of the epidemiological information on the four diseases shows that DPI has many unique features that characterize it as a different disease.

REFERENCES

- Alexander A.F. & Jensen R. 1959. Gross cardiac changes in cattle with high mountain (brisket) disease and in experimental cattle maintained at high altitudes. *Am. J. Vet. Res.* 20:680-689.
- Alexander A.F., Will D.H., Grover R.F. & Reeves J.T. 1960. Pulmonary hypertension and right ventricular hypertrophy in cattle at high altitude. *Am. J. Vet. Res.* 21:199-204.
- Alexander A.F. & Jensen R. 1963. Normal structure of bovine pulmonary vasculature. *Am. J. Vet. Res.* 24(103):1083-1092.
- Alexander A.F. 1978. The interaction of pathogenetic mechanisms in bovine high mountain (brisket) disease, p. 285-291. In: Keeler R.F., Van Kampen K.R. & James L.F. (ed.) *Effects of Poisonous Plants on Livestock*. Academic Press, New York.
- Bisgard G.E. 1977. Pulmonary hypertension in cattle. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 21:151-172.
- Blake J.T. 1965. Cardiac structural changes in cattle with brisket disease. *Am. J. Vet. Res.* 26(110):76-82.
- Blake J.T. 1967. Etiology of brisket disease. *Cornell Vet.* 58:305-314.
- Caparó A.C. 1950. Policitemia y mal de montana en corderos. Thesis, Lima, Peru. (Cit. Alexander & Jensen 1959)
- Caparó A.C., Copaira M. & de la Vega E. 1955. Mal de montana crónico en vacunos. *Anales Fac. Med.* 38:1-10. (Cit. Alexander & Jensen 1959)
- Clague D.C. & Webster D.J. 1967. St. George disease in cattle. *Qd Agric. J.* 93:494-497.
- Clark I.A. 1971. St. George disease of cattle. *Aust. Vet. J.* 47:123.
- Clark I.A. 1971. A note on the pathogenesis of St. George disease of cattle. *Aust. Vet. J.* 47:285-286.
- Clark I.A. 1973. The pathogenesis of St. George disease of cattle. *Res. Vet. Sci.* 14(3):341-349.
- Dodson M.E. 1965. A disease of cattle in South Australia resembling St. George disease. *Aust. Vet. J.* 41:65-67.
- Epling G.P. 1968. *Am. J. Vet. Res.* 29:97-109. (Cit. Bisgard 1977)
- Everist S.L. 1974. *Poisonous Plants of Australia*. Angus and Robertson, Sidney, p. 487-501.
- Glover G.H. & Newson I.E. 1915. Brisket disease (dropsy of high altitudes). *Colorado Agric. Exptl Stn Bull.* 204. 24p. (Cit. Glover & Newson 1918)
- Glover G.H. & Newson I.E. 1918. Further studies on brisket disease. *J. Agric. Res.* 15(7):409-413.
- Hall W.T.K. 1965. Discussion of the papers of Dodson (1965) and Sheriff (1965). *Aust. Vet. J.* 41:250-251.
- Hecht H.H., Lange R.L., Carnes W.H., Kuida H. & Blake J.T. 1959. Brisket disease. I. General aspects of pulmonary hypertensive heart disease in cattle. *Trans. Assoc. Am. Phys.* 72:157-172.
- Hecht H.H., Kuida H., Lange R.L., Thorne J.L. & Brown A.M. 1962. Brisket disease. II. Clinical features and hemodynamic observations in altitude-dependent right heart failure of cattle. *Am. J. Med.* 32:171-183. (Cit. Hull & Anderson 1978)
- Hull M.W. & Anderson C.K. 1978. Right ventricular failure of Montana cattle. *Cornell Vet.* 68(2):199-210.
- Jensen R., Pierson R.E., Braddy P.M., Saari D.A., Benitez A., Horton D.P., Laverman L.H., McChesney A.E., Alexander A.F. & Will D.H. 1976. Brisket disease in yearling feedlot cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 169(5):515-517.
- Kelly W.R. 1975. The pathology and haematological changes in experimental *Pimelea* spp. poisoning in cattle ("St. George disease"). *Aust. Vet. J.* 51:233-243.

25. Kelly W.R. 1975. ⁵⁹Fe utilisation and excretion in anaemia of cattle caused by *Pimelea trichostachya* intoxication. Aust. Vet. J. 51:504-510.
26. Kelly W.R. & Bick I.R.C. 1976. Some *in vivo* and *in vitro* properties of various fractions of *Pimelea trichostachya*. Res.Vet. Sci. 20:311-315.
27. Kelly W.R. & Seawright A.A. 1978. *Pimelea* spp. poisoning of cattle, p. 293-300. In: Keeler R.F., Van Kampen K.R. & James L.F. (ed.) Effects of Poisonous Plants on Livestock. Academic Press, New York.
28. Kuida H., Hecht H.H., Lange R.L., Brown A.M., Tsagaris T.J. & Thorne J.L. 1963. Brisket disease. III. Spontaneous remission of pulmonary hypertension and recovery from heart failure. J. Clin. Invest. 42(5):589-596.
29. McClure T.J. & Farrow B.R.H. 1971. Chronic poisoning of cattle by desert rice flower (*Pimelea simplex*) and its resemblance to St. George disease as seen in north-western New South Wales. Aust. Vet. J. 47:100-102.
30. McCrady J.D., Rosenberg H.S., Hallman G.L., McNamara D.G. & Vogel J.H.K. 1968. Effects of increased flow of pulmonary vascular resistance and structure in calves. Am. J. Vet. Res. 29(8):1539-1547.
31. Monge M.C. 1945. Aclimatacion en los Andes. Ann. Fac. Med. Lima 28:307-382. (Cit. Puntriano 1954)
32. Puntriano G.O. 1954. Physiological basis of "brisket disease" in cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 128:327-329.
33. Roberts H.B. & Healy P.J. 1971. *Pimelea simplex* and St. George disease of cattle. Aust. Vet. J. 47:123-124.
34. Roberts H.B. & McClure T.J. 1975. The isolation and structure of the toxin of *Pimelea simplex* responsible for St. George disease of cattle. Aust. Vet. J. 51:325-326.
35. Rotta A., Canepa A., Hurtado A., Velasquez T. & Chaves R. 1956. Pulmonary circulation at sea level and at high altitudes. J. Appl. Physiol. 9:328-336. (Cit. Hecht et al. 1959)
36. Ryff J.F. 1957. Brisket disease syndrome. J. Am. Vet. Assoc. 131:425-431.
37. Seawright A.A. & Francis J. 1971. Peliosis hepatis - a specific liver lesion in St. George disease of cattle. Aust.Vet. J. 47:91-99.
38. Sera R. & Jensen R. 1955. Unpublished data. Colorado State University, Fort Collins. (Cit. Alexander & Jensen 1959)
39. Sheriff D. 1965. A disease of cattle in South Australia resembling St. George disease. Aust. Vet. J. 41:68-69.
40. Stünzi H. & Teuscher E. 1970. Herzmuskulatur (Myocardium), p. 78-200. In: Dobberstein J., Pallaske G. & Stünzi H. (ed.) Handbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie der Haustiere. 3. Aufl. Band II, p. 93-94, 123-124.
41. Tokarnia C.H., Peixoto P.V., Döbereiner J., Consorte L.B. & Gava A. 1989a. *Tetrapterys* spp. (Malpighiaceae), a causa de mortandades em bovinos caracterizadas por alterações cardíacas. Pesq. Vet. Bras. 9(1/2):23-44.
42. Tokarnia C.H., Gava A., Peixoto P.V., Stolf L. & Moraes S.S. 1989b. A "doença do peito inchado" (edema da região esternal) em bovinos no Estado de Santa Catarina. Pesq. Vet. Bras. 9(3/4):73-83.
43. Will D.H., Alexander A.F., Reeves J.T. & Grover R.F. 1962. High altitude induced pulmonary hypertension in normal cattle. Circ. Res. 10:172-177.
44. Will D.H., Horrel J.F., Reeves J.T. & Alexander A.F. 1975. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 150:564-567. (Cit. Bisgard 1977)

FATORES QUE INFLUENCIAM A TOXIDEZ DE *Baccharis coridifolia* (Compositae): UM ESTUDO EXPERIMENTAL EM COELHOS¹

ROSAURA LEITE RODRIGUES² e CARLOS HUBINGER TOKARNIA³

ABSTRACT.- Rodrigues R.L. & Tokarnia C.H. 1995. [Factors which influence the toxicity of *Baccharis coridifolia* (Compositae): an experimental study in rabbits.] Fatores que influenciam a toxidez de *Baccharis coridifolia* (Compositae): um estudo experimental em coelhos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 15(2/3): 51-69. Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970, Brazil.

Experimental studies were performed on *Baccharis coridifolia* D.C. (Compositae), a small shrub with the popular name "mio-mio", one of the more important poisonous plants of southern Brazil, Uruguay, Argentina and Paraguay, in order to find out possible variations in toxicity due to its origin, sex, plant parts and annual variability. Doses which varied from 0.085 to 5.44 g/kg of the dried powdered aerial parts of *B. coridifolia* were administered in aqueous suspension by stomach tube to 49 adult rabbits. The plant material was collected in five different localities, from four sites in Brazil and one in Uruguay, in the flowering/seeding stage and separated by sex; in some regions collections were made in two successive years. From three of the sites additionally only the leaves of female plants were used for the experiments. Sixteen animals died and one that showed severe symptoms was euthanized together with the control animal. Nineteen animals that showed slight to severe symptoms, recovered. First symptoms after the administration of the plant were seen, in the fatal cases from 6h32min to 1 day 6h15min, and in the non-fatal cases from 4h03min to 24h00min, after ingestion. The clinical course, in the fatal cases, varied from approximately 6h00min to 4 days 20h23min and, in the non-fatal cases, from 9h25min to 11 days 3h45min. The length of time from first administration of the plant till death varied from 14h20min to 5 days 2h55min. The lethal dose varied from 0.17 to 5.44 g/kg. The main symptoms were anorexia, modifications in the form, size and consistency of the faeces and hair loss. The main post-mortem alterations were found in the stomach, caecum and liver. There was red colouration of the stomach mucosa. In the caecum the surface of the mucosa was rough and red and the wall was oedematous. The liver was clearer than normal with perceptible lobulation. Histopathologically these lesions correspond to 1) coagulative necrosis associated with haemorrhages and oedema of the stomach mucosa, 2) haemorrhagic necrosis of the mucosa and oedema and/or haemorrhages of the submucosa of the caecum and 3) cloudy swelling and/or vacuolization of the liver. Greater toxicity of *B. coridifolia* was associated with more southerly sites of collection in Brazil. The female plant was up to 32 times more poisonous than the male plant; the whole aerial parts of the plant were up to 16 times more poisonous when compared with only the leaves. There was up to a fourfold variation in toxicity from year to year. These differences can be explained by variations in the type and the amount of macrocyclic trichothecenes accumulated in the different parts of the plant, which are believed to be absorbed from the soil fungus *Myrothecium verrucaria* which produces them. *B. coridifolia* was compared with *B. megapotamica* var. *weirii*, which does not show these variations.

INDEX TERMS: Poisonous plants, experimental plant poisoning, *Baccharis coridifolia*, Compositae, "mio-mio", pathology, rabbit, trichothecenes.

¹Aceito para publicação em 14 de dezembro de 1994.

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.

²Seção de Anatomia Patológica do Serviço de Patologia Animal, Instituto Municipal de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman, Av. Bartolomeu de Gusmão 1120, Rio de Janeiro, RJ 20941-160.

³Departamento de Nutrição Animal e Pastagens, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ 23851-970; bolsista do CNPq (305010/76-VT).

SINOPSE.- Foram realizados estudos experimentais com *Baccharis coridifolia* D.C. (Compositae), subarbusto, vulgarmente conhecido como "mio-mio", uma das plantas tóxicas mais importantes no sul do Brasil, Uruguai, Argentina e Paraguai, com a finalidade de verificar possíveis variações na sua toxidez de acordo com sua procedência, sexo, as diversas partes da planta e de um ano para outro. Foram administradas, a 49 coelhos adultos, em suspensão aquosa, via intragástrica, doses variando de 0,085 a 5,44 g/kg, das partes aéreas dessecadas e pulverizadas de *B. coridifolia* cole-

tada em quatro procedências do sul do Brasil e uma do Uruguai, em floração/frutificação, separada por sexo e, de parte das regiões, em dois anos consecutivos; com a planta do sexo feminino de três destas procedências, realizaram-se, ainda, experimentos em que se administraram somente as folhas. Dezesseis animais morreram, um adoeceu acentuadamente sendo sacrificado junto com o controle e 19 adoeceram discretamente a acentuadamente, recuperando-se. O prazo entre a administração da planta e o início dos sintomas, nos casos fatais, variou de 6h32min a 1 dia 6h15min e para os animais que sobreviveram, de 4h03min a 24h00min. A evolução clínica, nos casos fatais, variou de aproximadamente 6h00min. a 4 dias 20h23min e a recuperação, dos que sobreviveram, de 9h25min a 11 dias 3h45min. O prazo entre a administração da planta e a morte dos animais variou de aproximadamente 14h20min a 5 dias 2h55min. A dose letal variou de 0,17 a 5,44 g/kg. Os principais sintomas consistiram em anorexia, alteração na forma, tamanho e consistência das fezes e perda de pêlos. Os principais achados de necropsia ocorreram no estômago, ceco e fígado, consistindo em avermelhamento da mucosa estomacal, mucosa com superfície rugosa e de cor vermelha e edema da parede do ceco e fígado mais claro e com lobulação perceptível. Estas lesões corresponderam histopatologicamente à necrose de coagulação associada a hemorragias e edema da mucosa estomacal, à necrose hemorrágica da mucosa e edema e/ou hemorragia da submucosa do ceco e à tumefação e/ou vacuolização hepáticas. *B. coridifolia* mostrou-se mais tóxica quanto mais para o sul do Brasil; a planta feminina foi até 32 vezes mais tóxica do que a masculina; as partes aéreas da planta, folhas, flores e caule finos juntos, foram até 16 vezes mais tóxicas, quando comparadas com somente as folhas; mostrou-se com maior ou menor toxidez de um ano para outro, com diferença na dose letal de até quatro vezes. Tais variações podem ser explicadas por diferenças no tipo e quantidade de tricotecenos macrocíclicos acumulados nas suas diversas partes, que parecem ser absorvidos do fungo do solo *Myrothecium verrucaria*, que os produz. *B. coridifolia* foi comparada com *B. megapotamica* var. *weirii*, que não apresenta tais variações.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, intoxicação experimental por plantas, *Baccharis coridifolia*, Compositae, "mio-mio", patologia, coelhos, tricotecenos.

INTRODUÇÃO

Baccharis coridifolia D.C., é uma planta classificada como subarbusto da família Compositae, chamada vulgarmente de "mio-mio". É considerada uma das plantas tóxicas mais comuns e importantes para animais de fazenda no sul do Brasil, onde ocorre, principalmente, na região da fronteira do Rio Grande do Sul e, em menor escala, nos Estados de Santa Catarina, Paraná e até em São Paulo. Tem importância, ainda, em outros países do Cone Sul da América do Sul, como Argentina, Uruguai e Paraguai (Döbereiner et al. 1976). O seu habitat são os campos nativos e a intoxicação se dá, sob condições naturais, em bovinos e ovinos, principalmente, mas também em eqüinos e suínos. Os animais intoxicados são aqueles provenientes de regiões onde a planta não vegeta, os quais são introduzidos em locais onde ela ocorre. Experimentalmente, a intoxicação já foi reproduzida em bovinos (Tokarnia &

Döbereiner 1975), ovinos (Tokarnia & Döbereiner 1976), caprinos e eqüinos (Flores & Houssay 1917), suínos (Schang 1929) e coelhos (Döbereiner et al. 1976).

A toxidez das plantas pode variar em função de uma série de fatores relacionados à planta ou ao animal. Através de extensa revisão de literatura verificou-se que apesar das numerosas pesquisas realizadas sobre a toxidez de *B. coridifolia*, há, ainda, tópicos importantes a serem elucidados:

Fatores ligados à planta

Fase de crescimento (Quadro 1). Através de experimentos realizados em bovinos, ovinos e coelhos, concluiu-se que *B. coridifolia* em floração/frutificação (coletada em março) é quatro a oito vezes mais tóxica para bovinos (Tokarnia & Döbereiner 1975) e duas a quatro vezes mais tóxica para ovinos (Tokarnia & Döbereiner 1976), sendo também duas a quatro vezes mais para coelhos (Döbereiner et al. 1976), do que em brotação (coletada em outubro/novembro). Tais estudos estão de acordo com os resultados obtidos por Flores & Houssay (1917), em pombos.

Partes tóxicas da planta. São tóxicas todas as partes de *B. coridifolia*, na seguinte ordem decrescente: flores e sementes, folhas, talos e raiz (Flores & Houssay 1917).

Estado da planta e modo de armazenamento das amostras.⁴ No processo de dessecação é perdida, aproximadamente, metade da toxidez de *B. coridifolia*; uma vez dessecada é capaz de manter sua toxidez durante longo período, pelo menos até 17 meses após a coleta, conforme verificado em experimentos em bovinos (Tokarnia & Döbereiner 1975). Em experimentos realizados em coelhos, Döbereiner et al. (1976) puderam observar que este tempo se estendeu até 30 meses após a coleta da planta. Em estudos químicos, foram isolados os princípios tóxicos das sementes de *B. coridifolia* 50 anos após sua coleta, demonstrando que a planta permaneceu tóxica mesmo após este período de tempo (Jarvis et al. 1991). Já Flores & Houssay (1917) verificaram que à temperatura de 120°C por 30 min. o seu princípio tóxico era destruído.

Procedência. Embora faltem estudos conclusivos, há indicações sobre a variação da toxidez de *B. coridifolia* de acordo com a região de sua ocorrência; estas sugerem ser a planta mais tóxica na fronteira do Rio Grande do Sul, menos em Santa Catarina (Tokarnia 1993) e atóxica no Estado de São Paulo (Andrade et al. 1963).

⁴Quando se tratar de trabalhos realizados pela equipe de Tokarnia e/ou Döbereiner, se não constar em detalhes, a planta destinada aos ruminantes foi dessecada à sombra em temperatura ambiente, guardada em sacos de pano à sombra em temperatura ambiente e administrada por via oral; quando destinada aos coelhos, foi dessecada à sombra à temperatura ambiente e, em seguida, em estufa a 40-45°C por dois a três dias, pulverizada em moinho Wiley com malha 60, armazenada em vidros hermeticamente fechados com tampa plástica, guardados à sombra em temperatura ambiente e administrada por sonda intragástrica sob forma de suspensão aquosa (Tokarnia 1993).

Quadro 1. Doses letais de *Baccharis coridifolia* para as principais espécies animais afetadas, com a planta em brotação e em floração/frutificação, fresca e dessecada

Espécie animal	Dose letal (g/kg) de <i>B. coridifolia</i> ^a			
	Em brotação		Em floração/frutificação	
	Estado		Estado	
	Fresco	Dessecado	Fresco	Dessecado
Equinos	-	-	0,125	-
Bovinos	2,0	1,0	0,25 a 0,50	0,332
Ovinos	3,0 a 4,0	-	1,0 a 2,0	-
Coelhos	-	3,0 a 4,0	-	0,68 a 1,36

^aA relação de peso do material fresco para o dessecado é de 3:1 (Tokarnia & Döbereiner 1975).

Estes últimos autores administraram, junto à ração de um bovino de peso não especificado, 12 kg de brotação (fresca ?) de *B. coridifolia* durante 14 dias, a qual era procedente de Itapetininga e sul de São Paulo; o animal não adoeceu.

Sexo da planta. Não foram realizados experimentos sobre a possível variação de toxidez de *B. coridifolia* de acordo com o seu sexo.

Ano para ano. Não há estudos comprovando se *B. coridifolia* aumenta ou diminui a sua toxidez de um ano para outro.

Fatores ligados ao animal

Espécie animal. Os equinos são duas a quatro vezes mais sensíveis à ação tóxica de *B. coridifolia* do que os bovinos (Tokarnia & Döbereiner 1975, Costa et al. 1995), que, por sua vez, são duas a quatro vezes mais do que os coelhos e duas a oito vezes mais do que os ovinos (Döbereiner et al. 1976, Tokarnia & Döbereiner 1976) (Quadro 1). Através da intoxicação experimental por *B. coridifolia* em equinos, Costa et al. (1995) demonstraram que o quadro clínico-patológico desenvolvido por estes foi semelhante ao dos bovinos e ovinos (Tokarnia & Döbereiner 1975, 1976). No entanto, ao compararem os órgãos predominantemente afetados, observou-se que nos bovinos e ovinos foram os pré-estômagos (rúmen e retículo); nos equinos experimentais, assim como nos coelhos, foram o estômago, ceco e cólon.

Idade. Na intoxicação experimental por *B. coridifolia*, em coelhos, realizada por Döbereiner et al. (1976), foram utilizados coelhos adultos e jovens de aproximadamente três meses e meio de idade, os quais não mostraram diferenças apreciáveis na sensibilidade à dose tóxica da planta.

Ingestão de água. Demonstrou-se experimentalmente, em bovinos, que beber água após a ingestão de *B. coridifolia* não influencia a evolução da intoxicação (Tokarnia &

Döbereiner 1975). O efeito cáustico que a planta exerce sobre o tubo digestivo é o que determina uma maior ingestão de água e, por isso, são justamente os animais mais doentes que bebem mais água. Morrem porque são eles os mais doentes, não tendo relação com a ingestão de água (Tokarnia 1993).

Efeito acumulativo/tolerância ou imunidade. Schang (1929) levantou a hipótese do desenvolvimento de tolerância ou imunidade para o tóxico, concluindo, em seus experimentos em coelhos, que tal fato não ocorre. Nos experimentos realizados em bovinos por Tokarnia & Döbereiner (1975), administrações repetidas de doses subletais revelaram não ter a planta poder acumulativo, indicando que o animal desenvolve pequena tolerância. Experimentos realizados em bovinos (Tokarnia & Döbereiner 1975) e ovinos (Tokarnia & Döbereiner 1976) indicaram não haver diferença na suscetibilidade entre os animais de regiões em que haja *B. coridifolia* e aqueles procedentes de áreas onde não vegeta a planta.

Para *Baccharis megapotamica* Sprengel var. *weirii*, planta tóxica do mesmo gênero que *B. coridifolia*, outros resultados foram encontrados na revisão de literatura quanto à variação de toxidez de acordo com os diversos fatores ligados à planta ou ao animal, tornando oportuna uma comparação entre as duas:

Fatores ligados à planta

Fase de crescimento. Em experimentos realizados em coelhos, pode-se comprovar que a fase de crescimento de *B. megapotamica* var. *weirii* não influencia a sua toxidez (Tokarnia et al. 1992b).

Estado da planta e modo de armazenamento das amostras. Nos experimentos realizados em coelhos com a planta dessecada e armazenada por 9 a 12 meses, a mesma perdeu a metade de sua toxidez. Em experimentos em bovinos com a planta dessecada e armazenada por esse mesmo período de tempo, foi mantida integralmente a sua toxicidade. Convém ressaltar que, quando destinada a coelhos, armazenou-se a planta moída em vidros hermeticamente fechados com tampa plástica; quando destinada a bovinos, foi guardada inteira em sacos de pano (Tokarnia et al. 1992a,b).

Procedência. A procedência da mesma não influencia a sua toxidez (Tokarnia et al. 1992b).

Sexo da planta. O sexo da mesma não influencia a sua toxidez (Tokarnia et al. 1992b).

Fatores ligados ao animal

Espécie animal. Os bovinos (dose letal = 1,0 g/kg) são aproximadamente duas vezes mais sensíveis do que os caprinos (dose letal = 2,0 g/kg) e duas a três vezes mais do que os ovinos (dose letal = 2,0 a 3,0 g/kg) (Tokarnia et al. 1992a, Armien et al. 1993, Barbosa et al. 1994).

Tolerância. Estudos realizados em coelhos mostraram que eles não desenvolvem tolerância à ação tóxica desta planta (Tokarnia et al. 1992b).

Com relação aos princípios tóxicos de *B. coridifolia*, foram isolados os tricotecenos macrocíclicos (roridinas A e E). Estes, de acordo com Habermehl et al. (1985), são produzidos pelo fungo *Myrothecium verrucaria* no solo e absorvidos pela planta, que os acumula nas suas diversas estruturas, sem modificá-los. Com *Baccharis megapotamica*, demonstrou-se que os tricotecenos, após absorvidos e transportados para as partes aéreas da planta, são convertidos, através de um processo de oxidação, em bacarinóides, os quais se encontram acumulados em altas concentrações (Kupchan et al. 1977, Jarvis et al. 1981).

Em virtude da ampla distribuição de *B. coridifolia* no Brasil, sua elevada toxicidade e sua grande importância como planta tóxica de interesse pecuário, o objetivo deste trabalho foi o de ampliar nossos conhecimentos a respeito dos fatores que influenciam a toxidez de *B. coridifolia*, comparando nossos resultados com os existentes para *B. megapotamica* var. *weirii*, tornando possível um diagnóstico seguro e a aplicação de medidas profiláticas eficazes.

O coelho foi escolhido como animal experimental por ser comprovadamente sensível à intoxicação por *B. coridifolia* (Döbereiner et al. 1976).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras de *Baccharis coridifolia* D.C., identificada no Jardim Botânico do Rio de Janeiro e registrada sob o número BR 292761 (Fig. 1), de cinco regiões diferentes: do Uruguai (Departamento de Rocha) e do Brasil em Bagé (Distrito Candiota) e Santa Maria, RS, Lages, SC e Piraí do Sul, PR, na fase de floração/frutificação (fevereiro a abril) e separadas por sexo, sendo que de parte das regiões em dois anos consecutivos.

As plantas foram dessecadas à sombra em temperatura ambiente e, em seguida, em estufa a 40-45°C por alguns minutos, trituradas em moinho Wiley com malha 60 e finalmente conservadas em vidros hermeticamente fechados com tampa plástica, guardados à sombra em temperatura ambiente. A relação de peso do material fresco para o dessecado é de 3:1 (Tokarnia & Döbereiner 1975). As partes aéreas dessecadas e pulverizadas das plantas foram administradas a 49 coelhos (*Oryctolagus cuniculus* L.) adultos cujos pesos variaram de 2.540 a 4.400g. Um

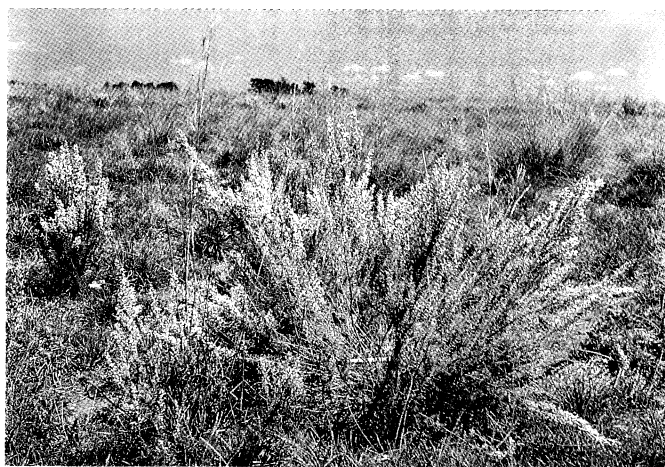


Fig. 1. *Baccharis coridifolia* D.C., subarbusto da família Compositae, em floração/frutificação, Rio Grande do Sul.

50º coelho foi utilizado como controle e sacrificado no final do experimento. Foram dadas separadamente as partes aéreas das plantas masculinas e femininas; com a planta do sexo feminino procedente de três regiões diferentes (Uruguai, Bagé e Santa Maria), foram ainda feitos experimentos em que se administraram somente as folhas. As doses de 0,085 a 2,72 g/kg foram administradas em uma só vez e as de 5,44 g/kg em duas vezes, com intervalo de aproximadamente 12h, no mesmo dia; a planta era dada na forma de suspensão aquosa, por meio de sonda intragástrica, adaptada a um funil de separação (Döbereiner et al. 1976). Os coelhos foram mantidos em gaiolas individuais e, após a administração da planta, observados quase continuamente até a morte ou recuperação. Os animais receberam água à vontade e ração peletizada comercial, duas vezes ao dia, em quantidades medidas (180 g/dia) para controlar modificações do apetite. Nos casos de morte, fazia-se necropsia imediata, sendo coletados fragmentos de estômago, duodeno, jejuno, íleo, ceco, sáculo redondo, apêndice vermiforme do ceco, cólon, reto, coração, pulmões, fígado, rins, baço, linfonodos mesentéricos, medula óssea, cérebro, cerebelo, hipófise, adrenais e tireóides, para estudos histopatológicos. O material coletado foi fixado em formalina a 10%, desidratado, diafanizado, incluído em parafina, cortado em micrótomo a 5 micra de espessura e corado pela técnica de hematoxilina-eosina (HE). Fragmentos de fígado de quatro coelhos, a título de amostragem, foram cortados em micrótomo de congelação e corados pelo método "Oil red O" para evidenciação de gordura (Lillie 1952).

O presente 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.

RESULTADOS

Dos 49 coelhos que receberam *Baccharis coridifolia*, em floração/frutificação, dessecada, 16 morreram, um (1190) adoeceu acentuadamente, sendo sacrificado e 19 adoeeceram discretamente a acentuadamente, recuperando-se. Os principais dados sobre os experimentos constam nos Quadros 2 a 7.

DOSES TÓXICAS (Quadro 2)

Experimentos realizados com a administração das folhas, flores e caules finos, juntos, da planta procedente do Uruguai e do Brasil, em Bagé e Santa Maria, RS, Lages, SC e Piraí do Sul, PR

a) *Experimentos com a planta procedente do Uruguai.* Com a planta desta procedência só foram realizados experimentos em 1993. As plantas do sexo feminino mataram com doses a partir de 0,17 g/kg. Com a dose de 0,085 g/kg o coelho adoeceu moderadamente. Com a administração da planta masculina nenhum coelho morreu; na dose de 5,44 g/kg adoeceu acentuadamente e os que receberam as doses de 2,72 g/kg e 1,36 g/kg adoeeceram discretamente.

b) *Experimentos com a planta procedente de Bagé, RS.* Com a planta feminina coletada em 1992, a dose de 0,68 g/kg levou o animal à morte; com 0,34 g/kg o coelho adoeceu leve/moderadamente. Em 1993, doses a partir de 0,17 g/kg mataram os coelhos mas o que recebeu 0,085 g/

Quadro 2. *Intoxicação experimental por Baccharis coridifolia em floração/frutificação, dessecada, em coelhos. Dados gerais*

Coelho		Planta						Desfecho	Início dos ^b sintomas após admi- nistração da planta	Evolução (Recuperação)	Morte após adminis- tração da planta
Nº (reg. SAP ^a)	Peso g	Coleta			Administração						
		Procedência	Data	Sexo	Data	Quant. g	Dose g/kg				
<i>Experimentos realizados com a administração das folhas, flores e caules finos, juntos</i>											
1178 (26.423/432)	3250	Uruguai (Depar- tamento de Rocha)	Abril/93	F ^c	14.5.93	2,3	0,68	Morreu	8h20min	Aprox. ^d 6h00m	Aprox. 14h20min
1183 (26.433/442)	3500	"	"	F	17.5.93	1,2	0,34	Morreu	15h20min	17h59m	1 dia 9h19min
1186 (26.443/452)	3340	"	"	F	20.5.93	0,6	0,17	Morreu	6h32min	4 dias 20h23min	5dias 2h55min
1192	3240	"	"	F	24.5.93	0,3	0,085	Adoeceu++ ^c	22h53min	(4 dias 16h47min)	-
1179	3450	"	"	M	14.5.93	4,7	1,36	Adoeceu(+)	16h35min	(1 dia 8h47min)	-
1187	3740	"	"	M	20.5.93	10,2	2,72	Adoeceu(+)	17h21min	(9h25min)	-
1190 (26.672/681)	3360	"	"	M	24.5.93	18,4	5,44	Adoeceu+++/ sacrificado	23h04min	Sacrificado após 61 dias 2h24min de evolução; parcialmente recuperado	-
1153 (25.841/849)	2620	Bagé (Distrito Candiota), RS	8.4.92	F	7.6.92	1,8	0,68	Morreu	11h10min	7h25min	18h35min
1158	2920	"	"	F	11.6.92	1,0	0,34	Adoeceu++(+)	4h03min	(1 dia 3h45min)	-
1195 (26.494/503)	3460	"	Março/93	F	27.5.93	1,2	0,34	Morreu	12h24min	3 dias 4h45min	3 dias 17h09min
1197 (26.504/513)	3080	"	"	F	3.6.93	0,6	0,17	Morreu	8h39min	Aprox. 1 dia, 3h00min	Aprox. 1 dia 11h39min
1198	3160	"	"	F	8.7.93	0,27	0,085	Não adoeceu	-	-	-
1196	3400	"	"	M	27.5.93	9,3	2,72	Adoeceu++(+)	12h17min	(2 dias 7h00min)	-
1193 (26.514/523)	3270	"	"	M	3.6.93	17,8	5,44	Morreu	23h15min	1 dia 10h11min	2 dias 9h26min
1148 (25.797/805)	3090	Santa Maria, RS	11.3.92	F	5.6.92	2,1	0,68	Morreu	16h50min	6h32min	23h22min
1155 (25.861/870)	3150	"	"	F	9.6.92	1,1	0,34	Morreu	6h35min	Aprox. 24h00min	Aprox. 1 dia 6h35min
1160	3060	"	"	F	12.6.92	0,55	0,17	Adoeceu++(+)	8h10min	(6 dias 23h10min)	-
1200 (26.580/589)	4110	"	11.3.93	F	8.7.93	0,7	0,17	Morreu	11h46min	Aprox. 6h41min	Aprox. 18h27min
1204	3080	"	"	F	15.7.93	0,27	0,085	Adoeceu++(+)	12h43min	(3 dias 21h08min)	-
1147	2830	"	13.3.92	M	5.6.92	2,0	0,68	Não adoeceu	-	-	-
1154	2540	"	"	M	9.6.92	3,5	1,36	Adoeceu++	6h53min	(1 dia 23h20min)	-
1159	2780	"	"	M	12.6.92	7,7	2,72	Adoeceu++(+)	8h20min	(4 dias 19h05min)	-
1162 (25.876/884)	2700	"	"	M	16.6.92	15,0	5,44	Morreu	1 dia, 6h15min	Aprox. 16h00min	Aprox. 1 dia 22h15min
1203	3230	"	11.3.93	M	15.7.93	17,6	5,44	Adoeceu++	22h33min	(4dias 9h53min)	-
1206	2820	"	"	M	15.7.93	7,7	2,72	Adoeceu(+)	7h28min	(1 dia 00h09min)	-
1151 (25.850/858)	2760	Lages, SC	2.4.92	F	7.6.92	1,9	0,68	Morreu	7h57min	11h31min	19h28min
1156	2800	"	"	F	11.6.92	1,0	0,34	Adoeceu++(+)	4h25min	(11 dias 3h45min)	-
1202	3820	"	11.3.93	F	8.7.93	1,3	0,34	Não adoeceu	-	-	-

Quadro 2 (cont.). *Intoxicação experimental por Baccharis coridifolia em floração/frutificação, dessecada, em coelhos. Dados gerais*

Coelho		Planta						Desfecho	Início dos ^b sintomas após administração da planta	Evolução (Recuperação)	Morte após administração da planta
Nº (reg. SAP ^a)	Peso g	Coleta			Administração						
		Procedência	Data	Sexo	Data	Quant. g	Dose g/kg				
1205	4400	"	"	F	15.7.93	3,0	0,68	Adoeceu+	7h36min	(1 dia 00h06min)	-
1210	2960	"	"	F	22.7.93	8,0	2,72	Morreu	8h48min	18h58min	1 dia 3h46min
(26.652/661)											
1152	2790	"	2.4.92	M	7.6.92	1,9	0,68	Não adoeceu	-	-	-
1157	2740	"	"	M	11.6.92	3,8	1,36	Não adoeceu	-	-	-
1161	3100	"	"	M	14.6.92	8,5	2,72	Não adoeceu	-	-	-
1163	2860	"	"	M	16.6.92	15,5	5,44	Adoeceu+	24h00min	(1 dia 1h50min)	-
1201	3600	"	11.3.93	M	8.7.93	19,6	5,44	Adoeceu(+)	22h46min	(1dia 3h10min)	-
1176	3300	Pirai do Sul, PR	26.2.93	F	14.5.93	2,3	0,68	Não adoeceu	-	-	-
1181	3640	"	"	F	17.5.93	5,0	1,36	Não adoeceu	-	-	-
1185	3200	"	"	F	20.5.93	8,8	2,72	Não adoeceu	-	-	-
1189	3200	"	"	F	24.5.93	17,6	5,44	Não adoeceu	-	-	-
1177	3100	"	"	M	14.5.93	4,3	1,36	Não adoeceu	-	-	-
1182	3200	"	"	M	17.5.93	8,8	2,72	Não adoeceu	-	-	-
1188	3580	"	"	M	21.5.93	19,6	5,44	Não adoeceu	-	-	-
<i>Experimentos realizados com a administração somente das folhas</i>											
1191	3300	Uruguaí (Departamento de Rocha)	Abril/93	F	24.5.93	4,5	1,36	Adoeceu+	11h10min	(3 dias 13h00min)	-
1194	3440	"	"	F	26.5.93	9,4	2,72	Morreu	9h00min	1 dia 19h35min	2 dias 4h35min
(26.453/462)											
1149	3240	Bagé (Distrito Candiota), RS	8.4.92	F	18.6.92	8,8	2,72	Adoeceu+++	11h55min	(5 dias 19h35min)	-
1146	4220	"	"	F	22.6.92	23,8	5,44	Morreu	1 dia 2h55min	Aprox. 1 dia 6h30min	Aprox. 2 dias 9h25min
(25.902/911)											
1164	2800	Santa Maria, RS	11.3.92	F	16.6.92	3,8	1,36	Adoeceu(+)	23h55min	(13h15min.)	-
1150	3000	"	"	F	18.6.92	8,2	2,72	Adoeceu+++	11h35min	(4 dias, 19h45min)	-
1165	2900	"	"	F	22.6.92	18,4	5,44	Morreu	23h10min	Aprox. 1 dia 11h25min	Aprox. 2 dias 10h35min
(25.892/901)											
1180	3050	-	-	-	-	-	-	Não adoeceu/sacrificado	-	Sacrificado no final do experimento, em 24.7.93.	-
(controle)											
(26.662/671)											

^areg. SAP = número de registro do material para exame histopatológico, Setor de Anatomia Patológica, Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ.

^bNo caso em que a planta foi administrada em duas vezes, a contagem dos prazos foi feita a partir da primeira administração.

^cF = planta feminina; M = planta masculina.

^dAprox. = aproximadamente - quando o animal foi encontrado morto, os prazos de evolução e morte após a administração da planta foram estimados pelas alterações pós-mortais.

^e+++ Adoeceu acentuadamente; ++(+) moderada/acentuadamente; ++ moderadamente; +(+) leve/moderadamente; + levemente; (+) discretamente.

kg da planta não adoeceu. A planta masculina só foi coletada em 1993, sendo que a dose de 5,44 g/kg matou o coelho e a de 2,72 g/kg fez com que o animal adoecesse leve/moderadamente.

c) *Experimentos com a planta procedente de Santa Maria, RS.* Com a planta feminina coletada em 1992, doses a partir de 0,34 g/kg mataram os coelhos; com a dose de 0,17 g/kg o animal adoeceu moderada/acentuadamente. Em 1993, a dose de 0,17 g/kg matou o coelho; com 0,085 g/kg o animal adoeceu leve/moderadamente. Com a planta do sexo masculino coletada em 1992, só a dose de 5,44 g/kg causou a morte do coelho; com 2,72 g/kg adoeceu moderada/acentuadamente, com 1,36 g/kg, moderadamente e com 0,68 g/kg o coelho não adoeceu. Em 1993, nem a dose de 5,44 g/kg da planta masculina levou o animal à morte e o mesmo adoeceu moderadamente; na dose de 2,72 g/kg, adoeceu discretamente.

d) *Experimentos com a planta procedente de Lages, SC.* Com a planta feminina coletada em 1992, o coelho morreu com a dose de 0,68 g/kg e adoeceu moderada/acentuadamente com 0,34 g/kg. Em 1993, a dose de 2,72 g/kg matou o coelho; o que recebeu 0,68 g/kg adoeceu levemente e o que recebeu 0,34 g/kg não adoeceu. Com a planta masculina coletada em 1992, a dose de 5,44 g/kg levou o animal a adoecer levemente e com doses menores os animais sequer adoeceram; em 1993, a dose de 5,44 g/kg levou o animal a adoecer discretamente.

e) *Experimentos com a planta procedente de Piraí do Sul, PR.* Com a planta desta procedência só foram realizados experimentos em 1993. Com as diversas doses administradas da planta de ambos os sexos, nenhum animal adoeceu.

Experimentos realizados com a administração somente das folhas, de plantas do sexo feminino, procedentes do Uruguai, coletadas em 1993 e do Brasil, em Bagé e Santa Maria, RS, coletadas em 1992

a) *Experimentos com a planta procedente do Uruguai.* A dose de 2,72 g/kg causou a morte do coelho; com 1,36 g/kg o animal adoeceu levemente.

b) *Experimentos com a planta procedente de Bagé, RS.* A dose de 5,44 g/kg levou o animal à morte; com 2,72 g/kg o animal adoeceu acentuadamente.

c) *Experimentos com a planta procedente de Santa Maria, RS.* A dose de 5,44 g/kg matou o coelho; com 2,72 g/kg adoeceu acentuadamente e com 1,36 g/kg adoeceu discretamente.

PRAZO ENTRE A ADMINISTRAÇÃO DA PLANTA E O INÍCIO DOS SINTOMAS, EVOLUÇÃO OU RECUPERAÇÃO E PRAZO ENTRE A ADMINISTRAÇÃO DA PLANTA E A MORTE DO ANIMAL (Quadro 2)

Experimentos realizados com a administração das folhas, flores e caules finos, juntos, da planta dos dois sexos,

procedente do Uruguai e do Brasil, em Bagé e Santa Maria, RS, Lages, SC e Piraí do Sul, PR, coletada nos anos de 1992 e 1993

O prazo entre a administração da planta e o início dos sintomas, nos casos fatais, variou de 6h32min. a 1 dia 6h15min. Para os animais que sobreviveram, este prazo variou entre 4h03min e 24h00min.

A evolução, nos casos fatais, variou de aproximadamente 6h00min a 4 dias 20h23min. Houve um caso (1190) em que o coelho adoeceu acentuadamente, ficando parcialmente recuperado, sendo sacrificado após 61 dias 2h24min de evolução. Nos animais que sobreviveram, o período de recuperação variou de 9h25min a 11 dias 3h45min.

Nos casos fatais, o prazo entre a administração da planta e a morte do animal, variou de aproximadamente 14h20min a 5 dias 2h55min.

Experimentos realizados com a administração somente das folhas, de plantas do sexo feminino, procedentes do Uruguai, coletadas em 1993 e do Brasil, em Bagé e Santa Maria, RS, coletadas em 1992

O prazo entre a administração da planta e o início dos sintomas, nos casos fatais, variou de 9h00min a 1 dia 2h55min. Para os coelhos que sobreviveram, este prazo variou entre 11h10min e 23h55min.

A evolução, nos casos fatais, variou de aproximadamente 1 dia 6h30min a 1 dia 19h35min. Nos animais que sobreviveram, o período de recuperação variou de 13h15min. a 5 dias 19h35min.

Nos casos fatais, o prazo entre a administração da planta e a morte do animal variou de 2 dias 4h35min a aproximadamente 2 dias 10h35min.

SINTOMAS DA INTOXICAÇÃO (Quadro 3)

Os sintomas mostrados pelos coelhos intoxicados por *B. coridifolia* consistiram, principalmente, em anorexia, perturbações digestivas e perda de pêlos.

A anorexia variou em intensidade e duração. A intensidade foi avaliada duas vezes ao dia, baseando-se na porcentagem de ração que foi ingerida pelo animal; se havia ingerido até 30%, a anorexia era considerada acentuada, 40% - moderada/acentuada, 50% - moderada, 60% - leve/moderada, 70% - leve, 80% - discreta e 90 a 100% - ausente. Associada à intensidade da anorexia, foi avaliada a duração da mesma a partir do dia seguinte em que o coelho havia recebido a planta; no dia da administração o estômago do animal estava repleto do vegetal e não se considerou seguro fazer tal avaliação. Os animais que tiveram intensidade de anorexia acentuada por dois dias ou mais, foram considerados com anorexia acentuada, entre um e um dia e meio - moderada, meio dia de anorexia acentuada foi considerada como leve. Foram encontrados graus intermediários a estes.

Apenas um coelho (1164) que adoeceu discretamente, não teve seu apetite alterado. Por outro lado, outro animal

(1190), que adoeceu acentuadamente e foi sacrificado após 61 dias, 2h24min. de evolução, teve anorexia acentuada por 26 dias seguidos. No início do experimento pesava 3360g e durante estes 26 dias perdeu 1120g, pesando 2240g. Depois teve vários outros dias de anorexia acentuada, intercalados com dias de menor intensidade de anorexia, sendo que até o dia de seu sacrifício recuperou 400g, pesando 2640g. Em seis casos (1178, 1153, 1148, 1200, 1151 e 1210) os coelhos morreram em período muito curto (aprox. 14h20min a 1 dia 3h46min) após a administração da planta, não sendo possível interpretar o grau de anorexia. No entanto, pode-se afirmar que o coelho 1178 chegou a ingerir 20% da ração dentro do curto período de aproximadamente 14h20min desde a administração da planta até sua morte; o coelho 1148 ingeriu 60% da sua ração dentro do período de 23h22min, desde a administração da planta até sua morte. Os demais animais (1153, 1200, 1151 e 1210) não se alimentaram até morrerem.

As perturbações digestivas eram manifestadas por fezes alteradas em forma, tamanho, consistência e cor. Por vezes, havia muco, sangue ou fibrina associados às fezes, os quais variaram em quantidade. Na maioria dos casos, fatais ou não, inicialmente as fezes apresentavam-se com alteração na forma (ovais, "em gota", "em bastão", disformes) e de tamanho reduzido, ficando escuras e ressequidas; depois podiam ficar moles, confluentes, pastosas, pastoso-líquidas e/ou líquidas (estas podendo ser sob a forma de pingos). Todas essas alterações das fezes podiam ocorrer no mesmo animal, como também somente uma ou algumas delas. A alteração na forma e tamanho também ocorreu, em casos não fatais, na fase de recuperação dos animais. Independente da consistência, as fezes foram encontradas de cor verde (claro a escuro), marrom (claro ou escuro) ou negra. Em dois casos (1186 e 1190), as fezes pastosas às vezes se apresentavam com muita espuma. Houve um coelho (1200) que não evacuou em nenhum momento, desde que recebeu a planta até sua morte, período que teve duração muito curta (aprox. 18h27min.).

Nos seis casos (1183, 1186, 1192, 1190, 1160 e 1191) em que o muco esteve associado às fezes, em quantidade grande a discreta, o mesmo era gelatinoso e transparente. Três destes animais (1186, 1190 e 1160) tiveram discreta presença de fibrina junto ao muco, no caso 1160 sob a forma de pseudomembranas.

Nos sete casos (1183, 1192, 1190, 1195, 1197, 1193 e 1160) em que havia sangue junto às fezes, em quantidade moderada/grande a pequena, o mesmo se apresentava sob a forma de um líquido avermelhado.

A perda de pêlos foi observada em 10 coelhos, sendo em um dos 16 casos fatais e em nove dos 20 casos não fatais, incluindo o coelho 1190, que foi sacrificado e que teve essa perda acentuada, levando a áreas de alopecia nas patas e nas partes ventrais do corpo; quando sacrificado, os pêlos estavam começando a crescer novamente.

De um modo geral, os animais doentes também manifestaram alterações no comportamento. No início ficavam quietos no canto da gaiola, encolhidos e assustados, por

vezes apresentando os pêlos arrepiados. No final das intoxicações (questão de hora ou pouco mais) com êxito letal, os animais ficavam irrequietos, mudando de posição várias vezes; às vezes apoiavam as patas dianteiras em cima do bebedouro, ficando com a cabeça para cima; faziam movimentos incoordenados, apresentavam desequilíbrio e as patas dianteiras e/ou traseiras podiam estar abertas, com a cabeça tombada no chão, entre elas; outras vezes, somente a cabeça se encontrava caída, seja para a frente ou para um dos lados. Depois os animais ficavam em decúbito lateral e tentavam se levantar, diversas vezes, sem conseguir; alguns coelhos levantavam a cabeça subitamente, uma ou duas vezes por minuto. Bem próximo à morte (minutos antes), podiam dar uns pulos sem coordenação, gemidos ou até gritos, faziam movimentos incoordenados e/ou de pedlagem, se contorciam e morriam logo após.

O animal utilizado como controle (1180) não apresentou sintomas de intoxicação.

ACHADOS DE NECROPSIA (Quadros 4 e 5)

Órgãos mais gravemente afetados (Quadro 4)

Na intoxicação por *Baccharis coridifolia*, os principais achados nos 17 coelhos necropsiados ocorreram no trato gastrointestinal, particularmente no estômago e ceco. O fígado também teve lesões na maioria dos casos.

Dos 17 coelhos, 11 apresentaram a parte glandular (região fúndica) do estômago com mucosa vermelha (Fig. 2), em grau variável, de acentuado a discreto, baseado na extensão da lesão. Três coelhos tiveram edema de sua parede, acentuado (1194), moderado/accentuado (1193) e leve (1190), de acordo com a intensidade desta lesão. O estômago geralmente foi encontrado repleto.

O ceco foi a parte mais freqüente e gravemente lesada; 13 coelhos apresentaram sua mucosa rugosa vermelha no espaço entre as dobras e 14 nas dobras (Fig. 3), em grau acentuado a discreto, também baseado na extensão da lesão. Esta ocorreu geralmente próximo à válvula íleo-cecal e na parte distal do ceco. Dois coelhos (1186 e 1195) apresentaram sua mucosa rugosa acinzentada nas dobras, em grau acentuado; nos espaços entre as dobras do ceco do coelho 1186 havia esta mesma lesão, em grau moderado e também áreas vermelhas, em grau leve/moderado, enquanto que no coelho 1195 a mucosa dos espaços entre as dobras apresentou-se difusamente vermelha, em grau moderado. O edema da parede e/ou dobras esteve presente, em intensidade acentuada a leve, em 12 animais. O ceco do coelho 1190 estava moderadamente dilatado; apresentava constrição da luz entre a nona e a 17ª dobras. De um modo geral, o conteúdo do ceco foi encontrado sob o estado líquido ou líquido-pastoso, de cor verde, outras vezes vermelho-amarronzada ou até negra.

O fígado foi encontrado com coloração mais clara e sua lobulação perceptível em 13 coelhos, em intensidade acentuada (assumindo aspecto de noz-moscada) a discreta.

Quadro 3. *Intoxicação experimental por Baccharis coridifolia em floração/frutificação, dessecada, em coelhos. Principais sintomas*

Coelho no.	Planta			Desfecho	Sintomas							
	Procedência	Sexo	Dose g/kg		Anorexia	Fezes					Perda de pêlos	
						Com forma e tamanho alterados	Pastosas	Pastoso-líquidas	Líquidas	Com muco		Com sangue
<i>Experimentos realizados com a administração das folhas, flores e caules finos, juntos</i>												
1178	Uruguai	F ^a	0,68	Morreu	SI ^b	A ^c	A	A	A	- ^d	-	A
1183	"	F	0,34	Morreu	++	A	P	P	A	(+)	++	A
1186	"	F	0,17	Morreu	+++	P	P	P	P	++	-	A
1192	"	F	0,085	Adoeceu++	+++	P	P	P	P	+(+)	++	A
1179	"	M	1,36	Adoeceu(+)	(+)	P	A	A	A	-	-	A
1187	"	M	2,72	Adoeceu(+)	(+)	P	A	A	A	-	-	A
1190	"	M	5,44	Adoeceu+++/ sacrificado	+++	P	P	P	P	+++	++	P
1153	Bagé, RS	F	0,68	Morreu	SI	P	A	A	A	-	-	A
1158	"	F	0,34	Adoeceu(+)	+	P	A	A	P	-	-	A
1195	"	F	0,34	Morreu	+++	P	P	P	A	-	++(+)	A
1197	"	F	0,17	Morreu	+(+)	A	P	P	P	-	++(+)	A
1996	"	M	2,72	Adoeceu(+)	++(+)	P	P	A	A	-	-	P
1193	"	M	5,44	Morreu	+++	P	P	P	A	-	++(+)	A
1148	Santa Maria, RS	F	0,68	Morreu	SI	P	P	A	A	-	-	A
1155	"	F	0,34	Morreu	++	P	P	P	A	-	-	A
1160	"	F	0,17	Adoeceu++(+)	+++	P	P	A	P	+	+	A
1200	"	F	0,17	Morreu	SI	A	A	A	A	-	-	A
1204	"	F	0,085	Adoeceu(+)	+++	P	P	A	A	-	-	P
1154	"	M	1,36	Adoeceu++	++	P	A	A	A	-	-	A
1159	"	M	2,72	Adoeceu++(+)	+++	P	P	A	A	-	-	A
1162	"	M	5,44	Morreu	+(+)	P	P	A	P	-	-	A
1203	"	M	5,44	Adoeceu++	+++	P	A	A	A	-	-	P
1206	"	M	2,72	Adoeceu(+)	+(+)	P	A	A	A	-	-	P
1151	Lages, SC	F	0,68	Morreu	SI	P	A	A	A	-	-	A
1156	"	F	0,34	Adoeceu++(+)	+++	P	P	P	P	-	-	A
1205	"	F	0,68	Adoeceu+	++(+)	P	P	A	A	-	-	P
1210	"	F	2,72	Morreu	SI	A	P	P	A	-	-	P
1163	"	M	5,44	Adoeceu+	++	P	A	A	A	-	-	A
1201	"	M	5,44	Adoeceu(+)	+(+)	P	A	A	A	-	-	P
<i>Experimentos realizados com a administração somente das folhas</i>												
1191	Uruguai	F	1,36	Adoeceu+	+++	P	A	A	P	(+)	-	P
1194	"	F	2,72	Morreu	++	P	A	A	P	-	-	A
1149	Bagé, RS	F	2,72	Adoeceu+++	+++	P	P	P	P	-	-	P
1146	"	F	5,44	Morreu	+++	P	A	A	A	-	-	A
1164	Santa Maria, RS	F	1,36	Adoeceu(+)	-	P	A	A	A	-	-	A

Quadro 3 (cont.). Intoxicação experimental por *Baccharis coridifolia* em floração/frutificação, dessecada, em coelhos. Principais sintomas

Coelho no.	Planta		Dose g/kg	Desfecho	Anorexia	Sintomas					Perda de pêlos	
	Procedência	Sexo				Com forma e tamanho alterados	Pastosas	Pastosos-líquidas	Líquidas	Com muco		Com sangue
1150	"	F	2,72	Adoceu+++	+++	P	A	A	A	-	-	A
1165	"	F	5,44	Morreu	+++	P	A	A	A	-	-	A
1180 (controle)	-	-	-	Não adoceu/sacrificado	-	A	A	A	A	-	-	A

^aF = planta feminina; M = planta masculina.

^bSI = sem interpretação.

^cA = ausente; P = presente.

^d+++ Em grau acentuado ou quantidade grande; ++(+) em grau moderado/accentuado ou quantidade moderada/grande; + em grau ou quantidade moderados; +(+) em grau leve/moderado ou quantidade pequena/moderada; + em grau leve ou quantidade pequena; (+) em grau ou quantidade discretos; - ausente.

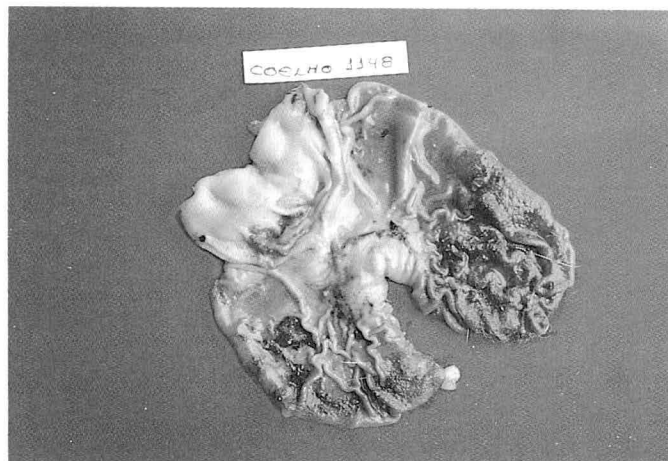


Fig. 2. Estômago com necrose e hemorragias na mucosa da região fúndica, na intoxicação experimental por *B. coridifolia* (Coelho 1148).

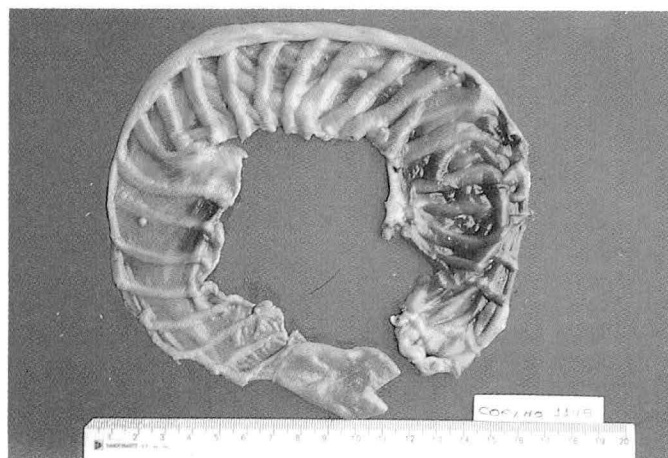


Fig. 3. Ceco com necrose e hemorragias na sua mucosa, na intoxicação experimental por *B. coridifolia* (Coelho 1148).

ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS (Quadros 6 e 7)

As principais alterações histológicas na intoxicação por *Baccharis coridifolia* nos 17 coelhos necropsiados foram verificadas no trato gastrointestinal, sobretudo no estômago e ceco, no fígado e tecido linfóide.

Órgãos mais gravemente afetados (Quadro 6)

Os órgãos que apresentaram alterações histológicas mais graves foram o estômago, ceco e fígado.

Na mucosa do estômago a alteração mais importante, observada em sete casos, foi a necrose de coagulação associada a hemorragias, ambas variando do grau acentuado ao leve; esta necrose se caracterizava por áreas vindas da superfície em que as células se encontravam com o citoplasma bem eosinofílico e núcleo picnótico ou ausente, ocupando extensão variável, podendo atingir somente a superfície da mucosa (1155, 1151 e 1210), um terço ou até a metade da mesma (1148), metade ou um pouco mais

(1146), variando entre um terço e dois terços de profundidade (1194) ou da metade até, com maior frequência, quase toda a mucosa (1165). Em tais áreas, verificou-se o desaparecimento do tecido normal. O edema da mucosa esteve presente em cinco casos, em intensidade leve/moderada

radial a leve, na maioria deles afetando toda a sua extensão, exceto em um coelho (1151), onde a maior parte da mucosa estava comprometida mas não toda ela. Em um animal (1210) foi constatada leve/moderada necrose das células parietais, caracterizada por células individuais com

Quadro 4. *Intoxicação experimental por Baccharis coridifolia em floração/frutificação, dessecada, em coelhos. Principais achados de necropsia dos órgãos mais gravemente afetados*

Coelho no.	Planta			Achados de necropsia							
	Procedência	Sexo	Dose g/kg	Estômago		Ceco				Fígado mais claro e com lobulação perceptível	
				Parte glandular com mucosa vermelha	Edema da parede	Mucosa rugosa vermelha		Mucosa rugosa acinzentada			Edema da parede e/ou dobras
						Entre as dobras	Nas dobras	Entre as dobras	Nas dobras		
<i>Experimentos realizados com a administração das folhas, flores e caules finos, juntos</i>											
1178	Uruguai	F ^a	0,68	(+) ^b	-	(+)	+	-	-	+(+)	+
1183	"	F	0,34	+(+)	-	++	+++	-	-	+++	++
1186	"	F	0,17	-	-	-	-	++	+++	-	+
1190	"	M	5,44	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>(sacrificado)</i>											
1153	Bagé, RS	F	0,68	-	-	+++	+++	-	-	+++	+
1195	"	F	0,34	-	-	-	-	-	+++	-	-
1197	"	F	0,17	(+)	-	+++	+++	-	-	++	(+)
1193	"	M	5,44	-	++(+)	+++	+++	-	-	+++	+++
1148	Santa Maria, RS	F	0,68	+	-	++	++	-	-	+++	+
1155	"	F	0,34	++	-	+++	+++	-	-	+(+)	+
1200	"	F	0,17	+	-	++(+)	++(+)	-	-	+++	+
1162	"	M	5,44	-	-	+++	+++	-	-	-	+
1151	Lages, SC	F	0,68	+	-	++	++	-	-	-	+
1210	"	F	2,72	(+)	-	+++	+++	-	-	++(+)	++
<i>Experimentos realizados com a administração somente das folhas</i>											
1194	Uruguai	F	2,72	++(+)	+++	+	+(+)	-	-	++	+++
1146	Bagé, RS	F	5,44	+++	-	++(+)	++(+)	-	-	+	-
1165	Santa Maria, RS	F	5,44	+++	-	-	+	-	-	+	-
1180	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>(controle)</i>											

^aF = planta feminina; M = planta masculina.

^b+++ Lesão acentuada; ++(+), moderada/accentuada; ++ moderada; +(+) leve/moderada; + leve; (+) discreta; - ausente.

tumefação celular, citoplasma bem eosinofílico e núcleo picnótico, sendo que as células adjacentes a estas se encontravam normais. Na submucosa, havia edema em três animais, acentuado (1194 e 1165) e moderado (1146); polimorfonucleares estavam presentes na área edematizada, em quantidade pequena/moderada (1165) e discreta (1194 e 1146). Em dois desses coelhos (1146 e 1165) havia pequena quantidade de polimorfonucleares em cariorrexis, em focos na submucosa, bem próximos à muscular da mucosa e também infiltrados na camada muscular.

Lesões bastante graves foram observadas no ceco. Na mucosa foi verificada necrose e hemorragia em quase todos os casos; os coelhos 1186 e 1195 apresentaram necrose acentuada sem hemorragia e o 1190 não apresentou alterações na mesma. Em nove casos, tanto a necrose quanto a hemorragia foram acentuadas, baseando-se na extensão e intensidade da lesão. Nestes casos, quase toda a extensão da mucosa estava comprometida em profundidade variável e a necrose hemorrágica caracterizou-se pelo desaparecimento das

Quadro 5. *Intoxicação experimental por Baccharis coridifolia em floração/frutificação, dessecada, em coelhos. Principais achados de necropsia dos demais órgãos afetados*

Coelho no.	Planta			Achados de necropsia						
	Procedência	Sexo	Dose g/kg	Intestino delgado	Cólon		Apêndice vermiforme do ceco	Linfonodos mesentéricos	Baço	Medula óssea
					Parte proximal	Parte distal				
<i>Experimentos realizados com a administração das folhas, flores e caules finos, juntos</i>										
1178	Uruguai	F ^a	0,68	e ^b c	-	-	-	-	-	-
1183	"	F	0,34	-	rv ^d ++	rv+++	v ^e (+)	-	-	-
1186	"	F	0,17	-	ra ^f + v+	-	-	-	-	-
1190 (sacri- ficado)	"	M	5,44	e(+) ^g ++	d++	-	-	-	av ^h +	-
1153	Bagé, RS	F	0,68	-	-	-	v(+)	v+	-	-
1195	"	F	0,34	v+	-	-	v(+)	-	-	-
1197	"	F	0,17	-	rv+++	-	v(+)	-	-	-
1193	"	M	5,44	e+	rv++(+)	e++	e+	v+ e++	v+ e++ av	-
1148	Santa Maria, RS	F	0,68	-	-	-	v(+)	-	-	-
1155	"	F	0,34	-	rv+	-	-	-	-	-
1200	"	F	0,17	-	-	-	-	-	-	-
1162	"	M	5,44	v+ d+	-	-	-	v+++ av	-	-
1151	Lages, SC	F	0,68	-	-	rv+++	-	v+++ av	-	-
1210	"	F	2,72	-	-	-	v++	-	-	-
<i>Experimentos realizados com a administração somente das folhas</i>										
1194	Uruguai	F	2,72	-	-	-	-	-	-	pvi
1146	Bagé, RS	F	5,44	-	-	-	-	-	av+++	-
1165	Santa Maria, RS	F	5,44	-	-	-	-	-	av+	-
1180 (controle)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

^aF = planta feminina; M = planta masculina.

^be = edema da parede ou órgão.

^c+++ Lesão acentuada; ++(+) moderada/accentuada; ++ moderada; +(+) leve/moderada; + leve; (+) discreta; - ausente.

^drv = mucosa rugosa vermelha.

^ev = mucosa ou superfície de corte vermelha.

^fra = mucosa rugosa acinzentada.

^gd = dilatação.

^hav = aumento de volume.

ⁱpv = pontos vermelhos.

Quadro 6. *Intoxicação experimental por Baccharis coridifolia em floração/frutificação, dessecada, em coelhos. Principais alterações histológicas dos órgãos mais gravemente afetados^a*

Coelho no.	Planta			Estômago					Ceco					Fígado						
				Mucosa			Submucosa		Mucosa			Submucosa		Muscular	Tg	V ^h	C	Pn		
	Procedência	Sexo	Dose g/kg	N ^b	H ^c	E ^d	E	Pn ^e	N	H	Pn	H	E	C ^f	Pn	N				
<i>Experimentos realizados com a administração das folhas, flores e caules finos, juntos</i>																				
1178	Uruguai	F ⁱ	0,68	--j	-	-	-	-	++	+	-	-	+++	-	-	-	+(+) D ^k , ppe ^l	+++D, ppe	+ cl ^m	-
1183	"	F	0,34	-	-	-	-	-	+++	+++	+	+(+)	+++	++	+(+)	-	+++D, ppe	(+) cl	-	-
1186	"	F	0,17	-	-	-	-	-	+++	-	++(+)	+(+)	+++	+	+	+(+)	+ D, ppe	+(+) cl	(+) D	-
1190 (sacri- ficado)	"	M	5,44	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	++(+)	-	-	-	-	-
1153	Bagé, RS	F	0,68	-	-	-	-	-	+++	+++	-	+	+++	-	+	-	+++ D, ppe	++ D, ppe	+ D	(+) D
1195	"	F	0,34	-	-	-	-	-	+++	-	+	+	+++	-	+(+)	++	(+) D	-	-	-
1197	"	F	0,17	-	-	-	-	-	+++	+++	-	+++	+++	+++	+	++	+ cl	-	+ D	-
1193	"	M	5,44	-	-	+(+)	-	-	+++	+++	-	+	+++	++	+++	+(+)	+++ D, ppe	(+) cl	-	-
1148	Santa Maria, RS	F	0,68	++(+)	++	+	-	-	++(+)	++(+)	-	++	+++	-	(+)	-	+++ D, ppe	+(+) D, ppe	+ D	+ D
1155	"	F	0,34	+	+	-	-	-	+++	+++	+	++	+++	+++	+(+)	-	+(+) D, ppe	+(+) D, ppe	+ D	-
1200	"	F	0,17	-	-	-	-	-	+++	+++	-	++(+)	+++	+++	+	-	+++ D, ppe	++ D, ppe	+ D	-
1162	"	M	5,44	-	-	+	-	-	+++	+++	-	-	+++	+++	-	-	++ D, ppe	+ D	(+) D	-
1151	Lages, SC	F	0,68	+	+	+(+)	-	-	+++	+++	-	++	+++	+	+	-	+(+) D, ppe	+(+) D	(+) D	+(+) D
1210	"	F	2,72	+	+	-	-	-	+++	+++	-	++(+)	+++	++	+	-	++(+)	D, ppe	(+) D	+(+) D
<i>Experimentos realizados com a administração somente das folhas</i>																				
1194	Uruguai	F	2,72	+++	++	-	+++	(+)	++	++	-	-	+++	-	-	-	+++ D, ppe	++ D, pcl ⁿ	(+) D	+ D
1146	Bagé, RS	F	5,44	+++	+++	-	++	(+)	+(+)	+(+)	+	-	++	-	+(+)	-	+(+) D, ppe	++ D, ppe	-	(+) D
1165	Santa Maria, RS	F	5,44	+++	+++	-	+++	+(+)	++	++	(+)	-	++	-	(+)	-	+++ D, ppe	++ D, ppe	(+) D	-
1180 (controle)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

^aSó constam neste quadro aquelas alterações que ocorreram pelo menos em três animais.

^bN = necrose.

^cH = hemorragia.

^dE = edema.

^ePn = polimorfonucleares.

^fC = congestão.

^gT = tumefação.

^hV = vacuolização.

ⁱF = planta feminina; M = masculina.

^j+++ = Em grau acentuado ou quantidade grande; ++(+) em grau moderado/accentuado ou quantidade moderada/grande; ++ em grau ou quantidade moderados; +(+) em grau leve/moderado ou quantidade pequena/moderada; + em grau leve ou quantidade pequena; (+) em grau ou quantidade discretos; - ausente.

^kD = difusa - quando ocorreu em todos os lóbulos mas não por todo o lóbulo.

^lppe = principalmente periportal.

^mcl = centrolobular.

ⁿpcl = principalmente centrolobular.

Quadro 7. Intoxicação experimental por *Baccharis coridifolia* em floração/frutificação, dessecada, em coelhos. Principais alterações histológicas dos demais órgãos afetados^a

Coelho nº.	Planta			Cólon							Reto			Apêndice vermiforme do ceco				Sáculo redondo			Linfonodos mesentéricos		Baço				
	Procedência	Sexo	Dose g/kg	Parte proximal				Parte distal			Mucosa			Mucosa				Mucosa			Tecido linfóide com Ncr	C	Tecido linfóide com Ncr				
				Mucosa		Submucosa		Mucosa	Ncr	Glândulas com Ncr	Pn	N	H	Tecido linfóide com Ncr	Pn	Tecido linfóide com Ncr	Pn	Pn com Ncr	C	C							
				N ^b	H ^c	C ^d	Pn ^e	H															Ncr ^f	Glândulas com Ncr	Pn		
<i>Experimentos realizados com administração das folhas, flores e caules finos, juntos</i>																											
1178	Uruguai	F8	0,68	- ^h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nc	-	+++		
1183	"	F	0,34	+++	+++	-	-	+(+)	-	-	-	-	-	+	+	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	++		
1186	"	F	0,17	+++	+++	-	-	+(+)	(+)	-	+(+)	-	+	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	++(+)		
1190 (sacri- ficado)	"	M	5,44	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+(+)		
1153	Bagé, RS	F	0,68	-	-	-	-	(+)	-	(+)	(+)	-	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-	nc	-	++		
1195	"	F	0,34	-	-	-	(+)	-	-	(+)	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	nc	-	++		
1197	"	F	0,17	+++	+++	-	-	++(+)	-	+(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++(+)		
1193	"	M	5,44	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	+	-	(+)	+(+)	-	-	++	-	-	nc	+(+)	+		
1148	Santa Maria, RS	F	0,68	-	(+)	-	-	+(+)	+	-	+(+)	+(+)	+	++	++	+	(+)	(+)	-	+	-	-	nc	++	+(+)		
1155	"	F	0,34	-	-	+	(+)	(+)	-	(+)	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	nc	+	++		
1200	"	F	0,17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	++		
1162	"	M	5,44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+(+)	++		
1151	Lages, SC	F	0,68	-	-	(+)	(+)	(+)	+	(+)	+	+(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	+	-	-	(+)	+(+)	+	++(+)	
1210	"	F	2,72	-	-	-	-	-	-	+(+)	(+)	-	+++	(+)	+	+	+(+)	(+)	++(+)	+	-	-	-	-	-	++	
<i>Experimentos realizados com a administração somente das folhas</i>																											
1194	Uruguai	F	2,72	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	(+)	-	(+)	-	-	-	-	-	+++	+	++
1146	Bagé, RS	F	5,44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	nc	-	+(+)		
1165	Santa Maria, RS	F	5,44	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	nc	++(+)	++		
1180 (controle)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

^aSó constam neste quadro aquelas alterações que ocorreram pelo menos em três animais.

^bN = necrose.

^cH = hemorragia.

^dC = congestão.

^ePn = polimorfonucleares.

^fNcr = necrose com imagens de picnose e/ou cariorrexia.

^gF = planta feminina; M = planta masculina.

^h+++ Em grau acentuado ou quantidade grande; ++(+) em grau moderado/accentuado ou quantidade moderada/grande; ++ em grau ou quantidade moderados; +(+) em grau leve/moderado ou quantidade pequena/moderada; + em grau leve ou quantidade pequena; (-) em grau ou quantidade discretos; - ausente.

ⁱnc = não coletado.

células epiteliais e boa parte do estroma, com substituição quase total por sangue, havendo detritos celulares de permeio. Nos coelhos 1186 e 1195, a necrose acentuada foi acompanhada pela presença de polimorfonucleares, em quantidade moderada/grande no primeiro e pequena no segundo. Em dois animais (1183 e 1155), havia pequena quantidade de polimorfonucleares em áreas da mucosa nas quais não foi observada a necrose hemorrágica. No coelho 1148 a necrose hemorrágica foi moderada/acentuada e em dois outros (1194 e 1165) moderada; no 1146 leve/moderada e acompanhada por pequena quantidade de polimorfonucleares, enquanto que no coelho 1165 era acompanhada por discreta presença de polimorfonucleares. No coelho 1178 a necrose foi moderada e a hemorragia leve. Somente em um caso (1178) foram observadas glândulas da mucosa com moderada necrose de suas células epiteliais, caracterizada por cariorrexia. Na submucosa, a alteração mais evidente foi o edema, presente em 16 animais, acentuado em 14 e moderado nos coelhos 1146 e 1165. Associada ao edema, a hemorragia esteve presente em 11 casos em intensidade acentuada a leve. Em dois coelhos (1186 e 1195) havia derrame de fibrina na área edemaciada, em grau moderado. Em 13 coelhos havia polimorfonucleares na área de edema, em quantidade variável de grande a discreta. Na submucosa do coelho 1190 havia moderada/grande quantidade de polimorfonucleares associada à moderada/acentuada fibrose, a qual se estendia para a camada muscular, em grau leve. Em nove animais foi verificada congestão acentuada a leve, associada ao edema e hemorragia da submucosa. Na camada muscular de quatro animais verificou-se necrose de Zenker de suas fibras, moderada (1195 e 1197) e leve/moderada (1186 e 1193). Somente no coelho 1186 havia acentuado edema, moderada hemorragia e pequena quantidade de polimorfonucleares na serosa.

No fígado, a alteração mais evidente e presente em quase todos os casos, exceto no coelho 1190, foi a tumefação dos hepatócitos, difusa na maioria deles, exceto no coelho 1197 no qual era somente centrolobular; variou de acentuada a discreta, na maioria das vezes mais pronunciada na região periportal, onde se caracterizava pelo extremo aumento de volume das células hepáticas, as quais mostravam citoplasma claro ou finamente granular, destacando-se esta área das outras nitidamente. Os núcleos também apresentavam-se aumentados de volume e vesiculares. Em dois casos (1183 e 1195) o processo evoluiu para a lise de alguns hepatócitos. Em outro animal (1178) foi observada necrose de coagulação individual de alguns hepatócitos. Em 14 coelhos foi observada vacuolização dos hepatócitos, na maioria das vezes difusa mas geralmente mais evidente na região periportal, em grau variando do acentuado ao discreto. No coelho 1194, apesar de difusa, foi mais marcante na região centrolobular; em três outros casos (1183, 1186 e 1193) foi somente centrolobular. Os vacúolos apresentavam-se de tamanho pequeno ou médio

e bem definidos. Em quatro amostras (1178, 1183, 1200 e 1194) submetidas ao método de coloração "Oil Red O" foi evidenciada a presença de gordura tanto na área de vacuolização quanto na de tumefação mas principalmente na região periportal. Em 12 casos havia congestão difusa, exceto no coelho 1178 no qual foi centrolobular, apresentando grau leve/moderado somente no coelho 1210, leve em seis animais e discreto em cinco. Nos sinusóides hepáticos de seis coelhos foi observada a presença difusa de polimorfonucleares, em quantidade moderada (1210), pequena/moderada (1151), pequena (1148 e 1194) e discreta (1153 e 1146).

DISCUSSÃO

Fatores que influenciam a toxidez de Baccharis coridifolia

Na intoxicação experimental em coelhos por *Baccharis coridifolia* em floração/frutificação, de ambos os sexos, dessecada, procedente de cinco regiões diferentes (do Uruguai e do Brasil) realizada em dois anos consecutivos, tanto as folhas, flores e caules finos, juntos, quanto somente as folhas, foram tóxicos para esta espécie animal, determinando um quadro agudo, exceto quando coletada em Pirai do Sul, PR, de onde foi atóxica. No entanto, houve grande diferença quando ao grau de sua toxidez com relação à procedência, sexo, partes tóxicas da planta e de um ano para outro (Quadro 2).

Variação da toxidez de acordo com a procedência da planta

1. *Experimentos realizados em 1992.* Nos experimentos realizados neste ano com a administração das folhas, flores e caules finos, juntos, foi utilizada a planta feminina coletada em Bagé e Santa Maria, RS e Lages, SC e a planta masculina de Santa Maria, RS e Lages, SC. Com a administração somente das folhas, foi utilizada a planta feminina coletada em Bagé e Santa Maria, RS.

a) Experimentos realizados com a administração das folhas, flores e caules finos, juntos

Pode-se constatar que as plantas femininas de Bagé e de Lages tiveram toxidez semelhante; a dose de 0,68 g/kg da planta de ambas as procedências levou os animais à morte; com 0,34 g/kg os animais adoeceram em grau leve/moderado e moderado/acentuado, respectivamente. Com a planta feminina de Santa Maria, doses a partir de 0,34 g/kg (que corresponde à metade da que causou a morte nas demais regiões) mataram os coelhos; com 0,17g/kg o animal adoeceu moderada/acentuadamente. A planta feminina de Santa Maria foi, portanto, aproximadamente duas vezes mais tóxica do que a procedente de Bagé e de Lages. Com a planta masculina de Santa Maria, 5,44g/kg mataram o coelho, enquanto que com 2,72 g/kg o animal adoeceu moderada/acentuadamente e com 1,36g/kg moderadamente; com a planta masculina coletada em Lages, a dose de 5,44g/kg levou o animal a simplesmente adoecer levemente, sendo que doses inferiores a esta sequer levaram os animais a adoecerem. A planta masculina de Lages foi, então, bem menos tóxica do que a de Santa Maria.

b) Experimentos realizados com a administração somente das folhas

A planta do sexo feminino coletada em Bagé e Santa Maria mostrou semelhante grau de toxidez, uma vez que procedente de ambas as regiões matou com a dose de 5,44 g/kg e com 2,72 g/kg fez com que os animais adoessem acentuadamente.

2. *Experimentos realizados em 1993.* Neste ano foram realizados experimentos com as folhas, flores e caules finos, juntos, de *B. coridifolia* de ambos os sexos, das cinco procedências diferentes.

Pode-se observar que a toxidez da planta feminina do Uruguai, Bagé e Santa Maria foi bastante semelhante pois os coelhos morreram com doses a partir de 0,17 g/kg; com 0,085 g/kg da planta do Uruguai o coelho adoeceu moderadamente, de Bagé não adoeceu e de Santa Maria, adoeceu leve/moderadamente. Com a planta feminina coletada em Lages, somente a dose de 2,72 g/kg levou o animal à morte (16 vezes a dose letal das outras três regiões); com 0,68 g/kg o animal adoeceu levemente e com 0,34 g/kg (o dobro da dose letal para a planta das outras procedências citadas), o coelho sequer adoeceu. Portanto, a planta feminina de Lages foi bem menos tóxica do que a do Uruguai, Bagé e Santa Maria. De modo semelhante ao constatado para a planta feminina, a planta masculina de Lages foi bem menos tóxica do que a das outras regiões mais ao sul do país e do Uruguai, as quais tiveram toxicidade próxima. Com a dose de 5,44 g/kg da planta coletada no Uruguai o coelho adoeceu acentuadamente e com doses inferiores adoeceu discretamente; com 5,44 g/kg da planta de Bagé o coelho morreu e com 2,72 g/kg adoeceu leve/moderadamente; com 5,44 g/kg da planta de Santa Maria o animal adoeceu moderadamente e com 2,72 g/kg discretamente. Com a dose de 5,44 g/kg da planta de Lages o coelho adoeceu discretamente.

A planta de ambos os sexos procedente de Piraí do Sul, PR se mostrou atóxica pois nenhum animal adoeceu, mesmo com doses de 5,44 g/kg.

No ano de 1993, em que a planta de ambos os sexos das cinco diferentes procedências foi estudada, pode-se observar semelhança na toxidez das plantas mais ao sul do país (Bagé e Santa Maria, RS) e do Uruguai, enquanto que em Lages, SC a toxidez foi bem menor e em Piraí do Sul, PR *B. coridifolia* foi atóxica. É importante comparar este resultado de Piraí do Sul, PR com o obtido por Andrade et al. (1963) com *B. coridifolia* coletada em Itapetininga e sul de SP, apesar da falta de dados exatos sobre o experimento. Com a planta desta procedência, os pesquisadores não conseguiram intoxicar um bovino. Outro ponto importante a ressaltar diz respeito a *Baccharis megapotamica* que, embora do mesmo gênero que *B. coridifolia*, não apresenta variações na toxidez em função da procedência (Tokarnia et al. 1992b).

Variação da toxidez de acordo com o sexo da planta

Foram feitos experimentos em 1992 com a planta separada por sexo das regiões de Santa Maria, RS e Lages, SC;

em 1993 foram realizados com a planta das cinco procedências diferentes.

1. *Planta procedente de Santa Maria.* Em 1992 a dose letal da planta feminina foi de 0,34 g/kg, enquanto que a dose letal da planta masculina foi de 5,44 g/kg (16 vezes superior). Com 0,68 g/kg da planta masculina (o dobro da dose letal da planta feminina) o animal sequer adoeceu. Em 1993 a planta feminina matou com 0,17 g/kg, enquanto que com 5,44 g/kg (32 vezes superior) da planta masculina o animal só adoeceu moderadamente. Com 0,085 g/kg da planta feminina o coelho adoeceu leve/moderadamente, enquanto que com a dose de 2,72 g/kg (32 vezes superior) da planta masculina o animal adoeceu discretamente.

2. *Planta procedente de Lages.* Em 1992 a dose letal da planta feminina foi de 0,68 g/kg, enquanto que com a dose de 2,72 g/kg (quatro vezes superior) da planta masculina o animal não adoeceu e com 5,44 g/kg (oito vezes superior) o animal só adoeceu levemente. Em 1993 a planta feminina matou com 2,72 g/kg e levou o animal a adoecer levemente com 0,68 g/kg; com a dose de 5,44 g/kg (duas e oito vezes superior, respectivamente) da planta masculina o animal só adoeceu em grau discreto.

3. *Planta procedente do Uruguai.* A dose letal da planta feminina foi de 0,17 g/kg, sendo que com 0,085 g/kg o animal adoeceu moderadamente. Com 5,44 g/kg e 2,72 g/kg (doses respectivamente 32 vezes superiores) da planta masculina o animal adoeceu em grau acentuado, com a primeira e em grau discreto, com a segunda.

4. *Planta procedente de Bagé.* A dose letal da planta feminina foi de 0,17 g/kg e da planta masculina de 5,44 g/kg (32 vezes superior). Com 2,72 g/kg da planta masculina (16 vezes a dose letal da planta feminina) o animal somente adoeceu leve/moderadamente.

Observa-se que em todas as procedências estudadas a planta feminina se mostrou bem mais tóxica do que a planta masculina, sendo que a dose letal da planta feminina em Bagé e Santa Maria chegou a ser 32 e 16 vezes, respectivamente, inferior à da planta masculina. No entanto, nos experimentos realizados com *B. megapotamica*, o sexo não influenciou a sua toxidez (Tokarnia et al. 1992b).

Variação da toxidez de acordo com as partes tóxicas da planta

Foram realizados experimentos com *B. coridifolia* do sexo feminino utilizando-se as folhas, flores e caules finos, juntos e somente as folhas, em 1992, procedente de Bagé e Santa Maria, RS e em 1993 do Uruguai.

Após a análise dos resultados obtidos pode-se constatar que com as diversas partes da planta, juntas, do Uruguai, os coelhos morreram com doses a partir de 0,17 g/kg, sendo que a dose de 2,72 g/kg (16 vezes superior) foi necessária para matar o coelho somente com as folhas. Enquanto que 0,085 g/kg das diversas partes da planta, juntas, o coelho adoeceu moderadamente, a dose de 1,36

g/kg (16 vezes superior) em que se administrou somente as folhas, fez com que o animal adoecesse levemente. Com as diversas partes da planta, juntas, de Bagé, a dose letal foi de 0,68 g/kg enquanto que com a administração somente das folhas a dose letal foi de 5,44 g/kg (oito vezes superior). Enquanto que 0,34 g/kg das diversas partes da planta, juntas, fez com que o coelho adoecesse leve/moderadamente, a dose de 2,72 g/kg (oito vezes superior) foi necessária para que o coelho adoecesse acentuadamente com a administração somente das folhas, sendo que só com as folhas a dose de 1,36 g/kg, equivalente a quatro vezes a dose letal da planta quando administradas as diversas partes da planta, juntas, levou o animal a adoecer só discretamente.

Pode-se concluir que independente da procedência, quando foram administradas as folhas, flores e caules finos, juntos, a planta sempre se mostrou mais tóxica do que quando administrou-se somente as folhas. A diferença da dose letal foi, quando originada do Uruguai e de Santa Maria, RS de 16 vezes, enquanto que de Bagé foi de oito vezes. O resultado obtido está de acordo com Flores & Houssay (1917) os quais afirmaram serem tóxicas todas as partes de *B. coridifolia*, na seguinte ordem decrescente: flores e sementes, folhas, talos e raiz. Para *B. megapotamica* não foram feitos estudos a respeito deste fator.

Varição da toxidez de um ano para outro

Com *B. coridifolia* procedente de Santa Maria, RS e Lages, SC, de ambos os sexos e de Bagé, RS, somente do sexo feminino, foram realizados experimentos em 1992 e em 1993.

1. *Planta procedente de Santa Maria.* A planta feminina foi mais tóxica em 1993 do que em 1992. Em 1992 a dose letal foi de 0,34 g/kg, correspondente ao dobro da dose letal do ano seguinte, que foi de 0,17 g/kg, sendo que em 1992 a dose de 0,17 g/kg levou o coelho a adoecer moderada/acentuadamente e em 1993, com 0,085 g/kg o animal adoeceu leve/moderadamente. A planta masculina, ao contrário, foi mais tóxica em 1992 do que em 1993. Em 1992 a dose letal foi de 5,44 g/kg e no ano seguinte esta mesma dose levou o coelho a adoecer moderadamente; em 1992 a dose de 2,72 /kg, correspondente à metade da dose letal neste ano, fez com que o animal adoecesse moderada/acentuadamente e com 1,36 g/kg moderadamente, enquanto que no ano seguinte, com 2,72 g/kg o coelho só adoeceu discretamente.

2. *Planta procedente de Lages.* A planta feminina foi mais tóxica em 1992 do que em 1993. Em 1993 a dose letal foi de 2,72 g/kg, correspondendo a quatro vezes a dose letal desta planta no ano anterior, que foi de 0,68 g/kg, a qual em 1993, levou o animal a somente adoecer levemente. Enquanto que em 1992 a dose de 0,34 g/kg fez com que o coelho adoecesse moderada/acentuadamente, com esta mesma dose no ano seguinte o animal sequer adoeceu. Com a planta masculina a toxidez foi semelhante nos dois anos; com 5,44 g/kg

em 1992 o coelho adoeceu levemente e em 1993 discretamente.

3. *Planta procedente de Bagé.* A planta feminina foi mais tóxica em 1993 do que em 1992. Em 1992 a dose letal foi de 0,68 g/kg, equivalente a quatro vezes a dose letal da planta no ano seguinte, que foi de 0,17 g/kg. Em 1992, a dose de 0,34 g/kg, que corresponde ao dobro da dose letal da planta em 1993, levou o animal a somente adoecer leve/moderadamente.

O que se pode observar foi que a planta feminina procedente de Bagé e Santa Maria, RS foi mais tóxica em 1993 do que em 1992, com dose letal quatro e duas vezes menor, respectivamente. Por outro lado, a planta feminina de Lages, SC foi mais tóxica em 1992 do que em 1993, com dose letal quatro vezes menor. A planta masculina de Santa Maria, RS foi, ao contrário do descrito para a planta feminina, mais tóxica em 1992 do que em 1993, enquanto que a planta masculina de Lages, SC teve toxidez semelhante nos dois anos consecutivos. Não foram realizados estudos com *B. megapotamica* para verificar se sua toxidez varia de ano para ano.

Varição da toxidez de acordo com a fase de crescimento da planta

No presente trabalho não foram feitos experimentos com *B. coridifolia* em brotação, mas sempre com a planta na fase de floração/frutificação. No entanto, muitas pesquisas realizadas em diversas espécies animais comprovaram ser a planta em floração/frutificação no mínimo duas e no máximo oito vezes mais tóxica do que a brotação, dependendo da espécie animal utilizada no experimento (Tokarnia & Döbereiner 1975, 1976, Döbereiner et al. 1976). Interessante é o fato deste fator comprovadamente também não influenciar a toxidez de *B. megapotamica* (Tokarnia et al. 1992b).

Importância dos tricotecenos macrocíclicos na toxidez de Baccharis coridifolia e Baccharis megapotamica

No que diz respeito à procedência, *B. megapotamica* cultivada em Maryland, nos Estados Unidos, não produziu as toxinas. Isto foi atribuído à inexistência do fungo no solo, já que o suprimento de roridina A para a planta levou à metabolização dessa ao bacarinóide B7, o que ocorre normalmente com *B. megapotamica* quando cresce em seu "habitat" natural (Jarvis et al. 1981). O tipo e quantidade de roridinas presentes em *B. coridifolia* depende do local de coleta da planta. Coletas realizadas em locais com poucos quilômetros de distância entre si resultaram em diferenças marcantes, sendo que de algumas procedências a planta continha grandes concentrações de roridinas (acima de 100 ppm), enquanto que de outros locais não havia a toxina na planta. Outras plantas coletadas a centenas de quilômetros de distância também demonstraram conter altas concentrações de roridinas (Jarvis et al. 1987). O fungo *M. verrucaria* foi isolado próximo à Curitiba, PR do solo ao redor de *B. coridifolia* mas não constituiu mais do que 1% das colônias de fungos isolados.

Fungos de crescimento mais rápido, como *Fusarium* spp. podem ter mascarado a presença do *Myrothecium* sp. Além disso, *M. verrucaria* mostrou-se fraco produtor de tricotecenos macrocíclicos a nível laboratorial (Jarvis et al. 1987). É evidente que plantas de mesma espécie, crescendo na mesma região do país, podem ou não ter no solo próximo a ela o fungo produtor dos tricotecenos macrocíclicos. As espécies de *Baccharis* que os possuem, eventualmente absorvem e concentram as toxinas, enquanto que as plantas que crescem em solos desprovidos do fungo não possuem as toxinas. Esta relação, no entanto, não é obrigatória, já que tanto *B. coridifolia* quanto *B. megapotamica* crescem bem na ausência destes fungos (Jarvis 1986). Tais estudos químicos apontam para uma variação na toxidez da planta relacionada à presença do fungo próximo às suas raízes mas os diversos autores sugerem, ainda, a possibilidade de que a produção de tricotecenos macrocíclicos pelo fungo seja estimulada e desencadeada por substâncias químicas liberadas por *B. coridifolia* e *B. megapotamica* no solo (Jarvis et al. 1981, 1987, Jarvis 1986). Além de todas essas hipóteses propostas por estes pesquisadores, o fato de *B. coridifolia* ter se mostrado mais tóxica quanto mais para o sul do país e no Uruguai, faz com que se suspeite da influência das condições climáticas nesta variação de toxidez.

No que se refere ao sexo, existe uma diferença substancial entre *B. coridifolia* do sexo feminino e masculino, mas não entre os dois sexos de *B. megapotamica*, quanto ao tipo e quantidade de tricotecenos macrocíclicos encontrados na planta. Foi demonstrado que *B. coridifolia* do sexo feminino acumula grandes concentrações de roridinas A e E (Jarvis et al. 1988); quando do sexo masculino, a principal toxina da planta é a miotoxina C e, em ordem decrescente, a roridina E, verrucarina A e roridina A (Jarvis et al. 1991). Ao ser estudada a fitotoxicidade "in vivo" de diversos tricotecenos macrocíclicos, a roridina A mostrou ser a mais tóxica (Jarvis 1984). Além disso, em *B. coridifolia* em floração do sexo feminino, foram encontrados níveis de tricotecenos macrocíclicos cinco vezes superiores aos constatados na planta masculina (Jarvis et al. 1991). Tais resultados podem explicar a maior toxidez da planta feminina, quando comparada com a masculina.

No que concerne às partes tóxicas, a análise das várias partes de *B. coridifolia* feminina mostrou que os níveis de tricotecenos macrocíclicos eram muito maiores nas sementes (acima de 4.000 ppm) do que no pappus, talo e planta inteira, nos quais as concentrações das toxinas foram consideravelmente mais baixas. Isto não ocorre com *B. megapotamica* (Jarvis et al. 1991). Em um estudo sobre a ocorrência e distribuição dos tricotecenos macrocíclicos em *Baccharis* spp. de diversas procedências e no solo em que as plantas se encontravam, nem todas as plantas ou partes das plantas continham as toxinas e a quantidade das mesmas variou muito (de 0 a 480 ppm) de acordo com a parte da planta analisada. Foi verificado que de dois locais, respectivamente 35 e 37 km a oeste de Curitiba, PR, havia concentrações maiores de roridinas nas partes supe-

riores das plantas (centenas ppm nas flores e sementes) e de um terceiro local próximo à Santa Maria, RS, 320 km ao sul de Curitiba, as sementes de uma determinada amostra continham grandes quantidades de roridinas A, D e E enquanto que de outra amostra, da qual se utilizou a planta inteira, só havia roridina D. Por outro lado, de uma região 35 km a oeste de Curitiba e da mesma região próxima à Santa Maria mencionada anteriormente, não foram encontradas toxinas nas folhas; amostras de outra região, 57 km a oeste de Curitiba, em que foram utilizadas ora as folhas, ora as sementes, as plantas eram desprovidas de tricotecenos (Jarvis et al. 1987). Foi demonstrado que *B. coridifolia* do sexo feminino acumula grandes concentrações de roridinas A e E em suas sementes, mais especificamente na cutícula das mesmas, onde níveis acima de 5% de peso seco foram encontrados (Jarvis et al. 1988).

Quanto à variação na toxidez de *B. coridifolia*, encontrada no presente estudo, de um ano para outro, esta poderia ser explicada pela presença ou ausência do fungo produtor de tricotecenos macrocíclicos no solo, a cada ano.

CONCLUSÕES

Foi constatado neste estudo que fatores como procedência, sexo e partes da planta influenciam a toxidez de *Baccharis coridifolia*, sendo que quanto mais para o sul do Brasil e no Uruguai mais tóxica se mostrou a planta; a planta feminina apresentou dose letal até 32 vezes inferior à da planta masculina; com a administração das folhas, flores e caules finos, juntos, obteve-se dose letal até 16 vezes inferior à encontrada quando foram administradas somente as folhas. Houve variação também na sua toxidez de acordo com o ano de coleta da planta, podendo ser mais ou menos tóxica de um ano para outro, tendo sido encontrada variação na dose letal de até quatro vezes. Além desses fatores, Tokarnia & Döbereiner (1975, 1976) e Döbereiner et al. (1976) comprovaram que a fase de crescimento de *B. coridifolia* também tem influência na sua toxidez, com a planta em floração/frutificação sendo até oito vezes mais tóxica do que a brotação. No entanto, *B. megapotamica* não altera sua toxidez em função da procedência, sexo e fase de crescimento (Tokarnia et al. 1992b), não havendo estudos experimentais sobre uma possível variação na sua toxidez de acordo com suas partes tóxicas ou de um ano para outro. As variações de toxidez de *B. coridifolia* em função dos diversos fatores mencionados anteriormente e a ausência destas variações em *B. megapotamica* podem ser explicadas por uma diferença no tipo e quantidade de tricotecenos macrocíclicos presentes na planta, os quais são responsáveis por sua toxidez.

Agradecimentos. - Os autores agradecem ao Dr. Jürgen Döbereiner, Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, por facilitar a realização dos experimentos referentes ao presente estudo nesta Instituição, bem como pelas correções inerentes às referências bibliográficas; aos Professores Aldo Gava, da Universidade para o Desenvolvimento de Santa Catarina, Centro Agroveterinário, Lages, SC, Cláudio Lombardo Barros, do Departamento de Patologia da Universidade Federal de Santa Maria, RS e, Franklin Riet-Correa, do Laboratório Regional de Diagnóstico, Faculdade de Vete-

rinária, Universidade Federal de Pelotas, RS, pela coleta e envio da planta; à Dra. Graziela Maciel Barroso, Jardim Botânico do Rio de Janeiro, pela identificação da planta; aos técnicos da Embrapa, José Nicodemio Bahia Filho e Wilson Cabral da Fonseca, pela confecção dos cortes histológicos e a João Luiz Bastos, pela ajuda na parte experimental.

REFERÊNCIAS

- Andrade S.O., Camargo W.V. & Fernandes N. 1963. II. Investigações sobre plantas tóxicas no Estado de São Paulo. Arqs Inst. Biológico, S. Paulo, 30:189-203, 5 estampas.
- Armién A.G., Peixoto P.V. & Tokarnia C.H. 1993. Intoxicação experimental por *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* (Compositae) em ovinos. Pesq. Vet. Bras. 13(1/2):5-20.
- Barbosa J.D., Armién A.G., Peixoto P.V. & Tokarnia C.H. 1994. Intoxicação experimental por *Baccharis megapotamica* var. *weirii* (Compositae) em caprinos. Pesq. Vet. Bras. 14(1):5-13.
- Costa E.R., Costa J.N., Armién A.G., Barbosa J.D. & Peixoto P. V. 1995. Intoxicação experimental por *Baccharis coridifolia* (Compositae) em eqüinos. Pesq. Vet. Bras. 15(1): 19-26.
- Döbereiner J., Rezende A.M.L. & Tokarnia C.H. 1976. Intoxicação experimental por *Baccharis coridifolia* em coelhos. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet. 11:27-35.
- Flores C. & Houssay B.A. 1917. Estudios sobre el mio-mio, nio o romerillo (*Baccharis coridifolia* DC.). Revta Inst. Bacteriol. Dep. Nac. Hygiene, B. Aires, 1(1):59-100.
- Habermehl G.G., Busam L., Heydel P., Mebs D., Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Spraul M. 1985. Macrocyclic trichothecenes: cause of livestock poisoning by the Brazilian plant *Baccharis coridifolia*. Toxicon 23(5):731-745.
- Jarvis B.B. 1984. Trichothecene mycotoxins from the higher plant *Baccharis megapotamica*, p. 312-321. In: Kurata H. & Ueno Y. (ed.) Toxigenic Fungi - Their Toxins and Health Hazard. Kodansha Ltd. (Reprint)
- Jarvis B.B. 1986. Trichothecene mycotoxins and their interactions with plants, p. 153-160. In: Steyn P.S. & Vleggar R. (ed.) Mycotoxins and Phytotoxins. Elsevier Science Publishers, Amsterdam.
- Jarvis B.B., Midiwo J.O., Tuthill D. & Bean G.A. 1981. Interaction between the antibiotic trichothecenes and the higher plant *Baccharis megapotamica*. Science 214:460-462.
- Jarvis B.B., Wells K.M., Lee Y-W., Bean G.A., Kommedahl T., Barros C.S. & Barros S.S. 1987. Macrocyclic trichothecene mycotoxins in Brazilian species of *Baccharis*. Phytopathology 77(6):980-984.
- Jarvis B.B., Midiwo J.O., Bean G.A., Aboul-Nasr M.B. & Barros C.S. 1988. The mystery of trichothecene antibiotics in *Baccharis* species. J. Nat. Prod. 51(4):736-744.
- 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.
- Kupchan S.M., Strelman D.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.
- Lillie R.D. 1952. Histopathologic Technic. Blakiston, Philadelphia, p. 68, 159, 254.
- Schang R.J. 1929. Accion toxica del romerillo o mio-mio (*Baccharis coridifolia*). Alguns conceptos nuevos. Revta Med. Vet., B. Aires, 11(4):151-181. (Artigo republicado em 1930, El Campo, B. Aires, 14(159):179-183, e em 1938, Campo Arado, Montevideo, 2(11):12-13)
- Tokarnia C.H. 1993. Comunicação pessoal (Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro).
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1975. Intoxicação experimental em bovinos por "mio-mio", *Baccharis coridifolia*. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet. 10:79-97.
- 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., 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* (Compositae) em coelhos. Pesq. Vet. Bras. 12(3/4):49-64.

Carun petroselinum (Umbelliferae) É TÓXICA PARA COELHOS?¹

MARILENE DE FARIAS BRITO²

ABSTRACT.- Brito M.F. 1995. [Is *Carun petroselinum* (Umbelliferae) poisonous to rabbits?] *Carun petroselinum* (Umbelliferae) é tóxica para coelhos? *Pesquisa Veterinária Brasileira* 15(2/3): 71-72. Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970, Brazil.

The sprouting and flowering parsley, *Carun petroselinum* Benth. et Hook. (= *Petroselinum crispum* (Mill) Nym. ex A. W. Hill), of the Umbelliferae family, was given *ad libitum* to 5 rabbits. The animals consumed between 92.6 g/kg (in 3 days) and 433.4 g/kg (in 4 days) and did not show any symptoms of poisoning. Initially they ate the plant well, but during the following days the appetite for the plant diminished, and between the 4th and 6th day the rabbits stopped to eat it.

INDEX TERMS: *Carun petroselinum*, *Petroselinum crispum*, parsley, Umbelliferae, plant poisoning, rabbits.

SINOPSE.- A administração de *Carun petroselinum* Benth. et Hook. (= *Petroselinum crispum* (Mill) Nym. ex A. W. Hill), a "salsinha", da família Umbelliferae, administrada *ad libitum* a 5 coelhos em doses que variaram entre 92,6 g/kg (em 3 dias) e 433,4 g/kg (em 4 dias) da planta fresca, em brotação ou em floração, não provocou sintomas de intoxicação. Observou-se que inicialmente os coelhos comiam avidamente a planta, porém, nos dias seguintes o apetite pela planta diminuiu, até sua completa recusa a partir do 4º ao 6º dia.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Carun petroselinum*, *Petroselinum crispum*, Umbelliferae, "salsinha", intoxicação por planta, coelhos.

INTRODUÇÃO

Temos obtido a informação, no Rio Grande do Sul, que *Carun petroselinum* ("salsinha") seria tóxica para coelhos. Para proteger certas plantações quanto à ação depredatória do coelho, os informantes indicam o cultivo desta planta nas margens dessas culturas.

O presente trabalho experimental teve como objetivo averiguar a toxidez de *Carun petroselinum* para coelhos.

MATERIAL E MÉTODOS

Carun petroselinum Benth. et Hook. (= *Petroselinum*

Quadro 1. Administração de *Carun petroselinum* a coelhos. Delineamento experimental

Natureza da planta	Data e hora da administração	Coelho no.	Peso (g)	Dose (g/kg)	Dose total (g/kg)	Número de dias de consumo	Sintomas
-	Controle	1181	4120	-	-	-	-
Fresca, em brotação	11 a 14.8.93	1203	3050	131,1	400	4	Ausentes
Fresca, em brotação	19 a 22.8.93	1191	3530	433,4	1530	4	Ausentes
Fresca, em floração	10 a 12.9.93	1182	3240	92,6	300	3	Ausentes
Fresca, em floração	10 a 12.9.93	1202	3410	95,3	325	3	Ausentes
Fresca, em floração	8 a 12.9.93	1181	3980	159,5	635	5	Ausentes

¹Aceito para publicação em 8 de março de 1995.

²Disciplina de Patologia Geral e Comparada, Depto Clínica Médica Veterinária, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso, Av. Fernando Correa da Costa s/n, Cuiabá, MT 78060-900.

crispum (Mill) Nym. ex A. W. Hill), da família Umbelliferae, foi administrada, em estado fresco, a 5 coelhos adultos, de ambos os sexos, pesando entre 3.050 e 3.980g. Um coelho adicional foi usado como controle. A planta foi coletada na localidade de Seropédica, município de Itaguaí, RJ, em

agosto e setembro de 1993. Ofertou-se a planta fresca em brotação e em floração através de ingestão *ad libitum*. As doses e o número de dias de consumo estão expressos no Quadro 1.

A planta, seja em brotação ou em floração, era pesada antes de ser ofertada e as sobras também eram pesadas, duas vezes ao dia. Esta alimentação era exclusiva, com água à vontade.

Após os animais não mais aceitarem a planta, passaram a consumir ração peletizada para coelhos, também pesada, inclusive as sobras, duas vezes ao dia. Os coelhos foram assistidos amiúde durante 7 dias e ficaram sob observação diária por mais 1 mês.

RESULTADOS

Nenhum dos coelhos experimentais desenvolveu sintomas de intoxicação. Apenas os animais 1181 e 1179 apresentaram espirros intermitentes durante o consumo da planta.

Todos os coelhos testados diminuíram gradualmente o consumo de *Carun petroselinum* a cada dia até não mais interessar-se pela planta, porém, quando reintroduziu-se a ração, logo comiam 100% desta. As fezes, durante o consumo da planta, mostraram-se um pouco mais escuras, mas com tamanho e consistência fisiológicas.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os experimentos realizados com *Carun petroselinum* em coelhos não confirmaram a crença popular que o coelho seria sensível à intoxicação pela "salsinha". Nestes experimentos os coelhos ingeriram quantidades muito elevadas da planta, durante vários dias, sem se intoxicar. O cultivo da "salsinha" nas margens de culturas para protegê-las da ação depredatória do coelho, não deve ter valor.

Agradecimentos. - Ao Prof. Pedro Germano Filho, do Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela identificação do material botânico.

SUBSTÂNCIAS COM ATIVIDADE SIMILAR À VITAMINA D₃ EM QUATRO PLANTAS CALCINOGENICAS¹

JOÃO ROBERTO BRAGA DE MELLO² e GERHARD HABERMEHL³

ABSTRACT.- Mello J.R.B. & Habermehl G. 1995. [Vitamin D₃-like activity in four calcinogenic plants.] Substâncias com atividade similar à vitamina D₃ em quatro plantas calcinogênicas. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 15(2/3):73-78. Depto Farmacologia, Instituto de Bociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Sarmento Leite 500, Porto Alegre, RS 90050-170, Brazil.

The presence of elements with vitamin D-like activity in the calcinogenic plants *Solanum malacoxylon* (Solanaceae), *Cestrum diurnum* (Solanaceae), *Trisetum flavescens* (Gramineae) and *Nierembergia veitchii* (Solanaceae) were evaluated by testing different extracts of these plants by oral administration to rachitic chicks fed with a diet free of vitamin D. After administration of the extracts the blood serum was analysed to determine the levels of calcium, phosphorus and alkaline phosphatase. The experimental results clearly demonstrated the presence of substances with vitamin D-like activity in the four plants. *S. malacoxylon* and *C. diurnum* contained hydrosoluble substances with high vitamin D-like activity indicated by significant high levels of calcium and phosphorus combined with reduced activity of the alkaline phosphatase. The experiments also showed that there might be a further substance with liposoluble characteristics in both plants. *N. veitchii* and *T. flavescens* contained only minor concentrations of lipo and hydrosoluble substances with vitamin D-like activity.

INDEX TERMS: Calcinogenic plants, enzootic calcinosis, plant poisoning.

SINOPSE.- Este trabalho avalia a presença de substâncias com atividade similar à vitamina D nas plantas calcinogênicas *Solanum malacoxylon*, *Cestrum diurnum*, *Trisetum flavescens* e *Nierembergia veitchii*. Diferentes extratos das plantas foram administrados por via oral a pintos raquíticos alimentados com ração livre de vitamina D. Após a administração oral dos extratos, o soro sanguíneo foi analisado para determinar os níveis de cálcio, fósforo e de fosfatase alcalina. Foram constatadas substâncias com atividade vitamina D nas quatro plantas. Pela administração de *S. malacoxylon* e *C. diurnum* mostraram-se a presença de substância hidrossolúvel, com potente atividade, indicada pelos aumentos significativos de cálcio e fósforo, e pela redução da atividade da fosfatase alcalina. Os experimentos indicaram também que substâncias lipossolúveis estão presentes em ambas as plantas. Pequenas concentrações de substâncias com atividade semelhante à vitamina D com características lipo e hidrossolúveis foram constatadas em *N. veitchii* e *T. flavescens*.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas calcinogênicas, calcinose enzoótica, intoxicações por plantas.

INTRODUÇÃO

A calcinose enzoótica é uma doença observada em diversos lugares do mundo, atingindo diferentes espécies animais. Na Austria, Alemanha e Suíça *Trisetum flavescens* (Gramineae) tem sido apontado como causador da doença em bovinos (Dirksen et al. 1973a, Libiseller et al. 1976). Nos Estados Unidos *Cestrum diurnum* (Solanaceae) é responsável pela calcinose enzoótica em equinos e bovinos (Krook et al. 1975a,b). Na Argentina e Brasil *Solanum malacoxylon* (Solanaceae) provoca o quadro tóxico em bovinos e ovinos (Worker & Carrillo 1967, Döbereiner et al. 1971). Observações mais recentes indicam *Nierembergia veitchii* (Solanaceae) como calcinogênica para ovinos no Rio Grande do Sul (Riet-Correa et al. 1981).

Os principais sinais clínicos da doença caracterizam-se por emagrecimento progressivo, dificuldade de locomoção, decúbito prolongado, cifose e engrossamento de articulações. Como achados anátomo-patológicos observa-se deposição de cálcio na parede de vasos, tendões e outros tecidos moles, semelhante à observada na hipervitaminose D. As concentrações de Ca e P no sangue sofrem marcadas alterações (Libiseller & Gunhold 1968, Dirksen et al. 1970, 1971a, Döbereiner et al. 1971, Tokarnia & Döbereiner 1974, Dämmrich et al. 1975).

Solanum malacoxylon, *Cestrum diurnum*, *Trisetum flavescens* e *Nierembergia veitchii* desencadeiam a doença quando administrados experimentalmente a ratos, coelhos,

¹Aceito para publicação em 21 de março de 1995.

Este trabalho é parte da Tese de Doutorado do primeiro autor, aprovada pela Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemanha.

²Departamento de Farmacologia, Instituto de Bociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Sarmento Leite 500, Porto Alegre, RS 90050-170; bolsista do CNPq (350507/94-5).

³Chemisches Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover, Bischofsholer Damm 15, D-3000 Hannover, Alemanha.

pintos, ovinos, caprinos, bovinos e outras espécies animais (Barros et al. 1970, Dirksen et al. 1970, 1971b, Sanson et al. 1971, Dämmrich et al. 1975, Wasserman 1978, Riet-Correa et al. 1981).

A vitamina D₃ e seus metabólitos tem sido isolados das plantas calcinogênicas. Os estudos efetuados até o momento tem avaliado as plantas individualmente, muitas vezes com modelos experimentais e parâmetros diferentes (Corradino & Wasserman 1974, Wasserman 1974, Riet-Correa et al. 1981, Rambeck et al. 1984b, Tröger 1984). Os resultados mostram concentrações variáveis, e muitas vezes conflitantes, de vitamina D₃ e seus metabólitos para as plantas estudadas (Wasserman 1974, Riet-Correa et al. 1981, Zucker & Rambeck 1981, Rambeck et al. 1984b).

Utilizando-se como modelo experimental o pinto raquítico, e avaliando-se as concentrações séricas de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina, o presente trabalho teve como objetivos: 1) comparar os efeitos de diferentes extratos das quatro plantas, preparados da mesma forma; 2) comparar as atividades dos extratos com as da vitamina D₃ e 3) avaliar qualitativamente a presença de substância com atividade similar à vitamina D₃ nas quatro plantas estudadas.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais experimentais

Foram utilizados pintos machos Leghorn, de um dia, marcados individualmente com anel, pesados e divididos aleatoriamente em grupos de 5 animais por gaiola. As gaiolas eram mantidas em sala climatizada, com temperatura inicial de 36°C, obedecendo uma redução de 2°C por semana.

Alimentação

Em relação à alimentação foram utilizados dois tipos de protocolo:

a) alimentação livre de vitamina D - os animais eram mantidos por 30 dias com ração inicial em forma de farinha, livre de vitamina D (ração A) (Firma SSNIFF Spezialdiäten GmbH, Soest, Alemanha);

b) alimentação controle - os animais eram mantidos por 30 dias com a ração inicial para pintos em forma de farinha (ração B) (Firma SSNIFF Spezialdiäten GmbH, Soest, Alemanha). Água ad libitum.

Os animais mantidos com a ração A recebiam os extratos das plantas pesquisadas e a vitamina D₃ por sonda gástrica no 28º e 29º dias do experimento, após 12 horas de jejum prévio. Doze horas após cada administração de extratos e substância padrão, sangue era coletado da veia braquial para determinação de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina.

Coleta das amostras de sangue e determinações séricas

Para análise sérica foram coletados de 2 a 3 ml de sangue em tubos de ensaio, que então era centrifugado (15 min a 3000 rpm), e o soro sanguíneo analisado fotometricamente quanto ao cálcio, fósforo e fosfatase alcalina.

Para a determinação do cálcio foi utilizado o Teste Combinação "Calcium (Nr. 204382), Fa. Boehringer Mannheim GmbH, Diagnostica".

Para a determinação do fósforo foi utilizado o Teste Enzimático "Farb-Test PHOS (Nr. 850775), Fa. Boehringer Mannheim GmbH, Diagnostica".

A atividade da fosfatase alcalina foi avaliada por meio do teste "Monotests-Alkalische Phosphatase opt. (Nr. 158138), Fa. Boehringer Mannheim GmbH, Diagnostica".

Fonte das plantas utilizadas

Solanum malacoxylon foi colhido na região de Pelotas (RS) durante o verão 1988/89.

Nierembergia veitchii foi colhida nos municípios de Santa Maria, São Sepé, Piratini e Pinheiro Machado (RS) durante a primavera-verão de 1988.

Cestrum diurnum foi colhido na Flórida (USA) em 1979.

Trisetum flavescens foi colhido na região de Regensburg (Alemanha) durante a primavera de 1989.

Extratos

O extrato aquoso das quatro plantas foi obtido a partir de 30 g de planta seca e moída, misturadas a 400 ml de água destilada e mantidas por 12 horas sob agitação. Durante este período a mistura era mantida resfriada e protegida da luz. Este processo era repetido 3 a 4 vezes até a perda da coloração do material vegetal. Os extratos eram então filtrados e liofilizados. Os extratos liofilizados eram pesados e armazenados sob refrigeração até o momento de sua utilização, quando eram novamente misturados em água destilada e administrados por sonda gástrica aos animais.

O extrato etéreo foi obtido a partir de 30 g de planta seca e moída, misturadas mediante agitador a 400 ml de éter destilado de petróleo por 12 horas, protegidas da luz e resfriadas. Este procedimento foi repetido 3 a 4 vezes até a perda da coloração do material vegetal. Os extratos eram filtrados e evaporados em rotavapor. Após a evaporação do éter, os extratos eram pesados e armazenados sob refrigeração até o momento de sua utilização, quando eram misturados em veículo oleoso (Miglioli®), e administrados por sonda gástrica aos animais.

Após o processo de extração com água e éter, o material vegetal seco a temperatura ambiente, sob proteção da luz, era considerado como sobrenadante do extrato e administrado na forma de alimento a grupos experimentais. Desta forma, grupos de cinco animais recebiam o material seco das 30 g de planta extraídas com água ou éter como fonte única de alimentação no 28º e 29º dias de experimento, após 12 horas de jejum prévio.

Substância padrão testada

Para a realização de análise qualitativo-quantitativa, foi testada a vitamina D₃ da Firma Hoffmann-La Roche, Basel, (Suíça). Esta substância foi testada no modelo de pintos raquíticos alimentados com ração livre de vitamina D nas doses de 0,1, 0,2 e 0,4 µg/animal/dia.

Além destes, foram constituídos dois grupos: um controle "saudável", que recebia ração inicial para pintos sob forma de farinha durante todo seu desenvolvimento e, um controle "raquítico" que recebia alimentação livre de vitamina D.

Análise estatística

Os resultados são apresentados por médias (x) e seus respectivos desvios padrão(s), com n = 5 para cada um dos grupos. A análise estatística foi realizada por intermédio do teste de análise de variância segundo Snedecor & Cochran (1967).

Para as representações gráficas foram realizadas análises de regressão a reta (r).

Os resultados de cálcio e fósforo de cada um dos grupos pesquisados foram representados pela média entre o 1º e 2º dias de coleta de sangue. Para a atividade da fosfatase alcalina, foi avaliada a variação entre o 1º e o 2º dias de coleta de sangue, considerando-se o 1º dia como 100%.

RESULTADOS

Solanum malacoxylon. Os extratos de *S. malacoxylon* não alteraram a concentração sérica de fósforo, mas reduziram significativamente a atividade da fosfatase alcalina. A concentração de cálcio só foi alterada pelo extrato aquoso. Os animais mantidos com ração livre de vitamina D não mostraram diferenças nos parâmetros avaliados dos pintos alimentados com ração normal. (Quadro 1)

Cestrum diurnum. Os quatro extratos de *C. diurnum* aumentaram significativamente os níveis de cálcio, quando comparados com os grupos controle “saúdável” e controle “raquitico”. O maior aumento foi obtido com o extrato aquoso, seguido do etéreo, sobrenadante do etéreo e sobrenadante do aquoso. Somente o extrato aquoso de *C. diurnum* proporcionou aumento de fósforo e redução da fosfatase alcalina de forma significativa, quando comparados com o controle “raquitico”. Com os demais extratos não houve diferença significativa em relação ao controle “raquitico” nem controle “saúdável”. (Quadro 1)

Trisetum flavescens. A concentração de cálcio só foi alterada pelo sobrenadante do extrato aquoso de *T. flavescens*. O extrato aquoso foi o único que reduziu significativamente a atividade da fosfatase alcalina. Todos os extratos elevaram significativamente os níveis de fósforo, quando comparados com o controle “raquitico”. (Quadro 1)

Nierembergia veitchii. Os extratos de *N. veitchii* não alteraram a atividade da fosfatase alcalina, enquanto que somente o sobrenadante do extrato etéreo elevou significativamente o fósforo sérico. Todos os extratos elevaram significativamente os níveis de cálcio, quando comparados com a controle “raquitico”. (Quadro 1)

Os resultados obtidos com doses crescentes de vitamina D₃ (0,1, 0,2 e 0,4 µg/kg/dia) sobre o cálcio, fósforo e fosfatase alcalina estão representados no Quadro 2. Houve aumento de Ca e P e redução da atividade da fosfatase alcalina, mas somente os valores obtidos com o cálcio mostraram significância na análise de regressão à reta (r = 0,6786), obedecendo uma relação dose-efeito.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Parâmetros pesquisados

Dos três parâmetros estudados, o cálcio sérico foi o que se mostrou o melhor para avaliar a presença de substâncias com atividade similar à vitamina D nas plantas calcinogênicas, utilizando o modelo de pintos raquiticos alimentados com ração livre de vitamina D. Esta mesma conclusão já havia sido feita por alguns autores pesqui-

Quadro 1. Concentrações séricas de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina em pintos raquiticos tratados com extratos de cada uma das quatro plantas calcinogênicas no 28º e 29º dias por via oral e seus respectivos controles

Tratamento	Cálcio (mg/dl)	Fósforo (mg/dl)	Fosfatase alcalina (%)
<i>Solanum malacoxylon</i> Extrato aquoso	13,47 ^b ± 0,32 ⁺	8,28 ^a ± 1,00	29,15 ^b ± 9,13
Sobrenadante aquoso	10,80 ^a ± 0,30	8,02 ^a ± 0,32	43,16 ^b ± 17,07
Extrato etéreo	10,76 ^a ± 0,70	7,13 ^a ± 0,28	36,13 ^b ± 12,52
Sobrenadante etéreo	11,05 ^a ± 0,45	7,84 ^a ± 0,63	31,80 ^b ± 7,59
Controle “saúdável”	10,14 ^a ± 0,24	7,26 ^a ± 0,52	99,30 ^a ± 7,35
Controle “raquitico”	9,77 ^a ± 0,23	6,48 ^a ± 0,63	108,42 ^a ± 11,67
<i>Cestrum diurnum</i> Extrato aquoso	13,30 ^a ± 0,92 ⁺	8,74 ^b ± 0,99	77,86 ^{ac} ± 6,53
Sobrenadante aquoso	11,75 ^b ± 0,55	7,89 ^{ab} ± 0,66	76,05 ^{ac} ± 12,92
Extrato etéreo	12,06 ^{ab} ± 0,63	7,70 ^{ab} ± 0,79	86,04 ^{bc} ± 10,31
Sobrenadante etéreo	11,91 ^b ± 0,65	8,16 ^{ab} ± 0,99	88,06 ^{bc} ± 14,87
Controle “saúdável”	10,14 ^c ± 0,24	7,26 ^{ab} ± 0,52	99,30 ^{ab} ± 7,35
Controle “raquitico”	9,77 ^c ± 0,23	6,48 ^a ± 0,63	108,42 ^b ± 11,67
<i>Trisetum flavescens</i> Extrato aquoso	10,96 ^{ab} ± 0,35 ⁺	8,92 ^b ± 1,07	74,80 ^b ± 15,95
Sobrenadante aquoso	11,30 ^b ± 0,78	8,92 ^b ± 0,55	109,74 ^a ± 7,32
Extrato etéreo	10,73 ^{ab} ± 0,75	9,09 ^b ± 0,32	93,72 ^a ± 17,86
Sobrenadante etéreo	10,86 ^{ab} ± 1,04	8,82 ^b ± 0,20	100,74 ^a ± 5,28
Controle “saúdável”	10,14 ^{ab} ± 0,24	7,26 ^{ab} ± 0,52	99,30 ^{ab} ± 7,35
Controle “raquitico”	9,77 ^a ± 0,23	6,48 ^a ± 0,63	108,42 ^a ± 11,67
<i>Nierembergia veitchii</i> Extrato aquoso	12,27 ^a ± 0,43 ⁺	8,36 ^{ab} ± 1,29	88,83 ^a ± 10,13
Sobrenadante aquoso	11,74 ^a ± 0,38	7,63 ^{ab} ± 1,12	84,54 ^a ± 10,01
Extrato etéreo	11,53 ^a ± 0,89	7,82 ^{ab} ± 0,83	98,96 ^a ± 9,81
Sobrenadante etéreo	11,33 ^{ab} ± 0,29	8,70 ^b ± 1,13	87,21 ^a ± 22,08
Controle “saúdável”	10,14 ^{bc} ± 0,24	7,26 ^{ab} ± 0,52	99,30 ^a ± 7,35
Controle “raquitico”	9,77 ^c ± 0,23	6,48 ^a ± 0,63	108,42 ^a ± 11,67

* Médias ± desvio padrão de 5 animais por grupo. Médias com diferentes letras dentro da mesma coluna diferem significativamente (p<0,05).

sando plantas calcinogênicas, mas avaliando a produção de proteína transportadora de cálcio (CaBP) na mucosa intestinal de pintos (Corradino & Wasserman 1974, Rambeck & Zucker 1977, Wasserman 1978, Rambeck et al. 1986). Sabe-se que a absorção intestinal de cálcio é dependente de vitamina D (Bar & Wasserman 1974).

Quadro 2. Concentrações séricas de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina em pintos raquíticos alimentados com ração livre de vitamina D, após a administração por via oral de três dosagens de vitamina D no 28º e 29º dias

Parâmetro	Vitamina D ₃ µg/kg/dia		0,1		0,2		0,4	
	x	s	x	s	x	s	x	s
Cálcio (mg/dl)	10,13 ± 1,32 ⁺		10,50 ± 0,18		10,79 ± 0,80			
Fósforo (mg/dl)	4,66 ± 0,60		5,28 ± 0,88		5,09 ± 1,00			
Fosfatase alcalina (%) ⁺⁺	98,51 ± 10,32		99,03 ± 13,60		88,04 ± 11,42			

⁺ Médias ± desvio padrão de 5 animais por grupo.

⁺⁺ Para o cálculo da fosfatase alcalina foi considerada a variação percentual de sua atividade entre 1º e 2º dias de coleta de sangue, considerando o 1º igual a 100%. Para os demais parâmetros, o valor obtido representa a média das duas coletas.

Além de aumentar a absorção intestinal de cálcio, a vitamina D aumenta a reabsorção óssea, com o objetivo de regular a concentração sanguínea deste íon (Bar & Wasserman 1974). Portanto os aumentos da concentração sanguínea de cálcio com os extratos testados ocorreram em virtude deste duplo efeito das substâncias com ação similar à vitamina D existentes nas plantas.

A existência de uma relação tipo dose-efeito para as três doses de vitamina D₃ sobre a calcemia possibilita uma avaliação qualitativa e quantitativa da presença desta substância ativa nas plantas calcinogênicas.

Embora tenha sido observado um aumento do fósforo sanguíneo com a vitamina D₃ e com os extratos testados, não houve uma relação dose-efeito. Deve-se salientar que os níveis de fósforo sanguíneo, além de regulação direta via parathormônio e CaBP, são também regulados de forma indireta pelas modificações primárias de cálcio (De Luca 1979). A complexidade do controle fisiológico da hipofosfatemia pode ser a causa dos resultados obtidos. Os resultados do fósforo devem ser considerados como complementares aos obtidos com o cálcio. Eles permitem somente uma avaliação qualitativa de substâncias com atividade similar à vitamina D nas plantas calcinogênicas.

Houve uma tendência de redução da atividade de fosfatase alcalina com a utilização de doses de vitamina D₃ no modelo de pintos raquíticos. Estes efeitos já tinham sido registrados anteriormente (Santos et al. 1976, Unshelm & Flock 1967). Estes autores registram que a redução da atividade da enzima em pintos raquíticos é um indicativo de que a dosagem da vitamina D₃ ou seus metabólitos está apropriada. Não houve o estabelecimento de resposta do tipo dose-efeito com a avaliação de atividade da fosfatase alcalina. Como já havia ocorrido com o fósforo, os valores obtidos com a fosfatase alcalina permitem somente uma avaliação qualitativa da presença de substâncias com atividade similar à vitamina D.

Substância com atividade similar à vitamina D

A análise dos resultados no modelo de pintos raquíticos alimentados com ração livre de vitamina D mostrou sensibilidade suficiente para a constatação de substância com atividade similar à vitamina D nas quatro plantas calcinogênicas estudadas. O modelo não discrimina uma substância especificamente, e sim o grupo como um todo (vitamina D₃, 25(OH)D₃, 1,25(OH)₂D₃ ou outro dos metabólitos da vitamina D). O mesmo foi possível com a própria vitamina D₃.

Além disso possibilitou a identificação da característica química do princípio ativo das plantas calcinogênicas (hidrossolúvel e/ou lipossolúvel).

S. malacoxylon e *C. diurnum* mostraram a presença de substâncias com características hidrossolúveis, que aumentaram significativamente o Ca e P séricos, e reduziram a atividade da fosfatase alcalina. Resultados semelhantes foram observados por vários autores, utilizando diferentes modelos biológicos, que indicaram a presença do metabólito 1,25(OH)₂D₃ ligado a um glicosídeo nas duas plantas (Wasserman 1974, 1975, Krook et al. 1975b, Boland et al. 1876, Boland 1986). Além da presença de substância com atividade vitamina D, com característica hidrossolúvel nestas duas plantas (extrato aquoso e sobrenadante do extrato etéreo positivos), houve também aumento de Ca e P, com redução da atividade da fosfatase alcalina com o extrato etéreo de *C. diurnum*, e com o sobrenadante do extrato aquoso de *S. malacoxylon*. Estes resultados sugerem a presença de substância lipossolúvel com atividade similar à vitamina D nas plantas.

Todos os extratos de *T. flavescens* e *N. veitchii* testados nos pintos alimentados com ração livre de vitamina D produziram aumento do nível sanguíneo de Ca e P, e reduziram a atividade da fosfatase alcalina. As elevações séricas de Ca e P, e as reduções da atividade da fosfatase alcalina, entretanto, foram muito inferiores aos obtidos

com *S. malacoxylon* e com *C. diurnum*. Desta forma, a toxicidade de *T. flavescens* e *N. veitchii* só pode ser explicada pela presença de substâncias com diferentes características de solubilidade (hidro e lipossolúvel). Além disso, pelos resultados obtidos pode-se inferir que, embora presentes, as substâncias com atividade similar à vitamina D são bastante reduzidas nas duas plantas. Estudos de Dirksen et al. (1972, 1973a,b, 1974), Zucker & Rambeck (1981), Rambeck & Zucker (1982 a,b, 1986), Rambeck et al. (1984 a,b) confirmam a presença de vitamina D (lipossolúvel) e 1,25 (OH)₂D₃ + glicosídeo (hidrossolúvel) em *T. flavescens*. Em *N. veitchii*, Riet-Correa et al. (1987) registraram a presença de pequenas concentrações de 1,25 (OH)₂D₃ + glicosídeo, sem todavia mencionar a presença de substância lipossolúvel.

Mello (1991) testando os extratos aquosos e etéreos das quatro plantas calcinogênicas em coelhos mostrou que, tanto o extrato aquoso de *S. malacoxylon* quanto o de *C. diurnum*, produziram marcada calcificação de tecidos moles (vasos sanguíneos, rins, paredes gástricas, coração). Estes resultados confirmam a presença de substância com atividade vitamina D e característica hidrossolúvel em ambas as plantas.

Com a dose utilizada (30 mg/kg, 4 vezes por semana, durante duas semanas) os extratos de *T. flavescens* e de *N. veitchii* não produziram alteração alguma (Mello 1991). É possível que dosagens maiores e/ou por períodos mais prolongados produzam sintomas de calcinose enzoótica nos coelhos. Dirksen et al. (1973b) conseguiram reproduzir a doença em coelhos com doses de 300 a 400 g de *T. flavescens* por dia, durante 3 a 4 semanas de tratamento. Com *N. veitchii* foi necessário uma dieta contendo 50% da planta para produzir sintomas de calcinose em coelhos (Riet-Correa et al. 1981).

Outra possibilidade para justificar os efeitos tóxicos de *T. flavescens* e *N. veitchii*, é que eles sejam produzidos pela ação conjunta de princípio ativo hidro e lipossolúvel, uma vez que uma pequena concentração de ambos parece estar presente nas duas plantas. Tröger (1984) e Rambeck & Zucker (1985) mostraram um efeito sinérgico de 24,25 (OH)₂D₃ e 1,25(OH)₂D₃ no aumento da produção de CaBP na mucosa intestinal de pintos raquíticos. O efeito conjunto foi maior do que a soma dos efeitos individualmente. Este tipo de sinergismo pode estar presente em *T. flavescens* e em *N. veitchii*.

O modelo de pintos raquíticos produzidos pela alimentação contínua (30 dias) de ração livre de vitamina D proporciona um modelo biológico útil para a constatação da presença de substâncias com atividade calcinogênica em extratos de plantas.

Neste modelo, as elevações séricas de Ca e P, e a redução da atividade da fosfatase alcalina mostraram-se sensíveis à presença de substâncias com atividade vitamina D nos extratos, mas os valores de cálcio foram os mais precisos, possibilitando a realização de curva tipo dose-efeito.

O limitante do método reside no fato de que ele não propicia a discriminação específica das substâncias com

atividade vitamina D nas plantas. É possível obter resultado positivo (elevação de Ca e P, e redução da atividade da fosfatase alcalina) com qualquer substância do grupo (vitamina D₃; 25(OH)D₃; 1,25(OH)₂D₃; 24,25(OH)₂D₃).

Agradecimentos. - Os autores agradecem o suporte financeiro às agências DAAD, CNPq, FAPERGS e PROPESP/UFRGS. Agradecimento especial aos senhores Wilhelm Edler, Stefan Meyer e ao Prof. Dr. Augusto Langeloh, cuja colaboração foi fundamental na execução deste trabalho. Os autores agradecem ainda os Professores: Dr. Severo de Barros (UFSM) pelo auxílio na coleta de *S. malacoxylon* e *N. veitchii*, Dr. Robert Wasserman (Cornell University, USA) pelo envio de *C. diurnum*, Dr. M. Schmieder (Saatzucht Steinach GmbH, Alemanha) pelo envio de *T. flavescens*, Dr. Keiser e Dr. Fischer (Firma Hoffmann-La Roche, Suíça) pelo fornecimento de vitamina D.

REFERÊNCIAS

- Bar A. & Wasserman R.H. 1974. Duodenal calcium binding protein in chick: A new bioassay for Vitamin D. J. Nutr. 104:1202-1207.
- Barros S.S., Pohlenz J. & Santiago C. 1970. Zur Kalzinose beim Schaf. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 77:346-349.
- Boland R.L. 1986. Plants as a source of Vitamin D₃ metabolites. Nutr. Rev. 44:1-8.
- Boland A.R., Skliar M.I., Boland R.L., Carrillo B.J. & Ruksan B.A. 1976. A method for the isolation of the active principle of *Solanum malacoxylon*. Anal. Biochem. 75:308-313.
- Corradino R.A. & Wasserman R. 1974. 1,25-dihydroxycholecalciferol-like activity of *Solanum malacoxylon* extract on calcium transport. Nature 252:716-718.
- Dämmrich K., Döbereiner J., Done S.H. & Tokarnia C.H. 1975. Skeletveränderungen nach Vergiftungen mit *Solanum malacoxylon* bei Rindern. Zentralbl. Veterinärmed. A 22:313-329.
- De Luca H.F. 1979. The Vitamin D system in the regulation of calcium and phosphorus metabolism. Nutr. Rev. 37:161-193.
- Dirksen G., Plank P., Spiess A., Hänichen T. & Dämmrich K. 1970. Über eine enzootische "Kalzinose" beim Rind. 1. Klinische Beobachtungen und Untersuchungen. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 77:321-338.
- Dirksen G., Plank P., Dämmrich K. & Hänichen T. 1971a. Das klinische und pathologisch-anatomische Bild einer enzootischen Kalzinose beim Rind. Vet. Med. Nachr. (Bayer):199-214.
- Dirksen G., Plank P., Dämmrich K., Hänichen T. & Spiess A. 1971b. Über eine enzootische "Kalzinose" beim Rind. 4. Untersuchungen an Schafen mit selektiver Verfütterung von Klee, Gräsern oder Kräutern. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 78:9-12.
- Dirksen G., Plank P., Hänichen T. & Spiess A. 1972. Über eine enzootische "Kalzinose" beim Rind. 5. Experimentelle Untersuchungen an Kaninchen mit selektiver Verfütterung von Knollgras (*Dactylis glomerata*), Goldhafer (*Trisetum flavescens*) und einem Gräsergemisch. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 79:77-79.
- Dirksen G., Plank P., Hänichen T. & Spiess A. 1973a. Die enzootische Kalzinose - eine neue Weidekrankheit des Rindes. Tierzüchter 25:150-152.
- Dirksen G., Plank P., Hänichen T. & Spiess A. 1973b. Über eine enzootische "Kalzinose" beim Rind. 6. Experimentelle Kalzinose beim Kaninchen durch selektive Verfütterung von Goldhafer (*Trisetum flavescens*). Dtsch. Tierärztl. Wschr. 80:148-152.
- Dirksen G., Plank P., Simon U., Hänichen T., Daniel P. & Spiess A. 1974. Über eine enzootische "Kalzinose" beim Rind. 7. Nachweis der kalzinogenen Wirkung von Goldhafer (*Trisetum flavescens*) beim Wiederkäuer. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 81:1-5.
- Döbereiner J., Tokarnia C.H., Costa C.B.D., Campos J.L.E. & Dayrell M.S. 1971. "Espichamento", intoxicação de bovinos por *Solanum malacoxylon* no Pantanal do Mato Grosso. Pesq. Agropec. Bras., Ser. Vet. 6:91-117.

- Krook L., Wasserman R.H., McEntree K., Brokken T.D. & Teigland M.D. 1975a. *Cestrum diurnum* poisoning in Florida cattle. *Cornell Vet.* 65:557-575.
- Krook L., Wasserman R.H., Shiverly J.N., Tashjian A.H., Brokken T.D. & Morton J.F. 1975b. Hypercalcemia and calcinosis in Florida horses: Implication of the shrub *Cestrum diurnum*, as the causative agent. *Cornell Vet.* 65:26-56.
- Libiseller R. & Gunhold P. 1968. Calcinosen bei Kühen. *Naturwissenschaften* 56:39.
- Libiseller R., Glawischnig 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. *Zentralbl. Veterinärmed. A* 23:1-30.
- Mello J.R.B. 1991. Untersuchungen der Auswirkungen von kalzinogenen Pflanzen auf die Elemente Ca, P und alkalische Phosphatase bei Hühnerküken. Diss., Tierärztl. Hochschule Hannover.
- Rambeck W.A. & Zucker H. 1977. Isolierung eines Vitamin D-ähnlichen Steroids mit Hilfe der HPLC, p. 126-134. In: Königsteiner, Chromatographie-Tage, Königstein.
- Rambeck W.A. & Zucker H. 1982a. Isolation and characterization of a Vitamin D₃ compound from a plant by liquid chromatography. *Chromatogr. Sci.* 20:319-326.
- Rambeck W.A. & Zucker H. 1982b. Vitamin D-artige Aktivitäten in kalzinogenen Pflanzen. *Zentralbl. Veterinärmed. A* 29:289-296.
- Rambeck W.A. & Zucker H. 1985. Synergistic effects of 1,25(OH)₂D₃ and 24,25 (OH)₂D₃ on duodenal CaBP in rachitic chicks and on eggshell weight in Japanese quails. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 126:799-804.
- Rambeck W.A. & Zucker H. 1986. Vitamin D-Metabolite als Ursache der durch Goldhafer ausgelösten Rinder-Kalzinose. *Übers. Tierernährung* 14:179-198.
- Rambeck W.A., Weiser H. & Zucker H. 1984a. Biological activity of glycosides of Vitamin D₃ and 1a-Hydroxyvitamin D₃. *Int. J. Vit. Nutr. Res.* 54:25-34.
- Rambeck W.A., Weiser H. & Zucker H. 1984b. Biological activity of 1a-25-Dihydroxyergocalciferol in rachitic chicks and in rats. *Int. J. Vit. Nutr. Res.* 54:135-139.
- Rambeck W.A., Weiser H. & Zucker H. 1986. Antirachitische Aktivität von Glukosiden des 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ und des 1a-Hydroxyvitamin D₃ beim Hühnerküken. *Wien. Tierärztl. Mschr.* 73:169-171.
- 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 do Rio Grande do Sul. *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 ingestion of *Nierembergia veitchii* (Solanaceae). *Pesq. Vet. Bras.* 7:85-95.
- Sanson B.F., Vagg M.J. & Döbereiner J. 1971. The effects of *Solanum malacoxylon* on calcium metabolism in cattle. *Res. Vet. Sci.* 12:604-605.
- Santos M.N. Nunes V.A., Nunes I.J., Barros S.S., Wasserman R.H. & Krook L. 1976. *Solanum malacoxylon* toxicity: Inhibition of bone resorption. *Cornell Vet.* 66:565-589.
- Snedecor G.W. & Cochran W.G. 196. *Statistical Methods*. 6th ed. Iowa State University Press, Ames.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1974. "Espichamento", intoxicação de bovinos por *Solanum malacoxylon*, no Pantanal do Mato Grosso. II. Estudos complementares. *Pesq. Agropec. Bras.* 9:53-62.
- Tröger C. 1984. Wirkungsvergleich von *Solanum malacoxylon*, *Trisetum flavescens*, 1,25-Dihydroxycholecalciferol, 1,25-Dihydroxy-ergocalciferol und 24,25-Dihydroxycholecalciferol am rachitischen Hühnerküken. Diss., Tierärztl. Fak., München.
- Unshelm J. & Flock D. 1967. Die Konzentration des anorganischen Phosphor und die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Blutplasma von Rindern in Abhängigkeit vom Alter und anderen Einflussfaktoren. *Zentralbl. Veterinärmed. A* 14:528-547.
- Wasserman R.H. 1974. Calcium absorption and Calcium-Binding Protein synthesis; *Solanum malacoxylon* reverses Strontium inhibition. *Science* 183:1092-1094.
- Wasserman R.H. 1975. Active Vitamine D-like substances in *Solanum malacoxylon* and other calcinogenic plants. *Nutr. Rev.* 33:1-5.
- 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: Keller R.F., Kampen K.R. & James L.F. (ed.) *Effects of Poisonous Plants on Livestock*. Academic Press, New York.
- Worker N.A. & Carrillo B.J. 1967. "Enteque seco", calcification and wasting in grazing animals in Argentine. *Nature* 215:72-74.
- Zucker H. & Rambeck W.A. 1981. Vitamin D₃- und Vitamin D₃-Metaboliten-Aktivität in *Trisetum flavescens*. *Zentralbl. Veterinärmed. A* 28:436-441.

ESTUDO COMPARATIVO DA TOXIDEZ DE *Lantana camara* var. *aculeata* (Verbenaceae) EM BOVINOS E OVINOS¹

MARILENE DE FARIAS BRITO² e CARLOS HUBINGER TOKARNIA³

ABSTRACT.- Brito M.F & Tokarnia C.H. 1995. [A comparative study on the toxicity of *Lantana camara* var. *aculeata* (Verbenaceae) in bovines and ovines.] Estudo comparativo da toxidez de *Lantana camara* var. *aculeata* (Verbenaceae) em bovinos e ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 15(2/3):79-84. Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970, Brazil.

In experiments performed in 10 sheep the dried *Lantana camara* var. *aculeata* collected at Quatis, State of Rio de Janeiro, was shown not to have lost its toxicity at least up to one year after the plant had been harvested and kept in cloth sacs at room temperature. Both the fresh and the dried plant caused severe disease characterized by photosensitization and death of all animals at the dose of 40 g/kg, given at once; doses of 10 g/kg/day given during 4 following days, also caused severe disease of 4 out of 5 animals, but 2 of the severely diseased animals recovered.

A comparison with the experimental poisoning in bovines with the plant collected from the same place showed that sheep were as sensible as cattle, which are the main victims of the natural poisoning by *L. camara*.

These experimental results are very useful for the survey on the toxicity of the many lantanas (species and taxa) which exist in Brazil, because samples of these plants may be collected in the different regions of Brazil independently of distance and difficulties in the ready performance of the experiments, and because sheep could be used instead of bovines in the experimentation.

INDEX TERMS: Poisonous plants, *Lantana camara* var. *aculeata*, Verbenaceae, plant poisoning, sheep, pathology.

SINOPSE.- Em experimentos realizados em 10 ovinos foi demonstrado que *Lantana camara* var. *aculeata* procedente do município de Quatis, no Estado do Rio de Janeiro, não perdeu em toxidez pela dessecação e a manteve pelo menos durante um ano após a sua coleta, quando guardada em sacos de pano à temperatura ambiente. Tanto a planta fresca como a dessecada causaram doença grave com fotossensibilização e morte de todos os ovinos na dosagem única de 40 g/kg; a dosagem de 10 g/kg/dia durante 4 dias seguidos também causou doença grave em 4 dos 5 animais, mas 2 dos 4 animais severamente afetados se recuperaram.

Uma comparação com a intoxicação experimental em bovinos com a planta da mesma procedência, mostrou que os ovinos têm a mesma sensibilidade que os bovinos, as principais vítimas da intoxicação natural por lantanas.

Estes dados facilitarão o levantamento sobre a toxidez das muitas espécies e taxa de *Lantana* existentes no Brasil, pois permitem a coleta das amostras nas diversas regiões, independente-

mente de distâncias e dificuldades de pronta utilização, e o uso de ovinos em vez de bovinos na experimentação.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, *Lantana camara* var. *aculeata*, Verbenaceae, intoxicação por planta, ovinos, patologia.

INTRODUÇÃO

São conhecidas mais de 50 espécies do gênero *Lantana*, pertencentes à família Verbenaceae. A sua ação fotossensibilizante tem sido demonstrada em estudos de surtos naturais afetando principalmente bovinos, e através de numerosos trabalhos experimentais em bovinos e ovinos, tanto com as folhas frescas quanto dessecadas.

Verifica-se pela leitura desses trabalhos que há grande variação na toxidez entre as diversas espécies e mesmo entre as taxa de *Lantana camara*, a espécie mais comum. Como alguns pesquisadores trabalharam com a planta fresca, outros com a planta dessecada, não se pode comparar entre si os resultados obtidos, pois não se sabe se pela dessecação e estocagem a planta perde toxidez.

Para se poder avaliar a importância das lantanas do Brasil, sob ponto de vista epidemiológico, e para se estabelecer diagnósticos seguros e indicar medidas profiláticas, é preciso saber quais são as lantanas tóxicas, qual o grau de sua toxidez e a sua distribuição.

¹Aceito para publicação em 22 de março de 1995.

²Disciplina de Patologia Geral e Comparada, Depto Clínica Médica Veterinária, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso, Av. Fernando Correa da Costa s/nº, Cuiabá, MT 78060-900.

³Depto Nutrição Animal e Pastagem, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; bolsista do CNPQ (305010/76-VT).

O objetivo principal desse trabalho foi o de verificar se *Lantana camara* mantém a toxidez pela dessecação e se ela a conserva por períodos de 3, 6 e 12 meses após a coleta, quando dessecada à sombra e guardada em sacos de pano, à temperatura ambiente.

Conservando a sua toxidez pela dessecação e mantendo-a durante um período prolongado (por exemplo 1 ano), isto facilitaria grandemente o levantamento sobre a toxidez das muitas lantanas existentes em nosso país, pois permitirá a coleta de amostras nas diversas regiões independentemente de distâncias e dificuldades de pronta utilização.

Como a intoxicação natural por *Lantana* spp. tem sido descrita principalmente em bovinos, outro objetivo deste trabalho foi comparar a sensibilidade à toxidez de *Lantana camara* entre bovinos e ovinos. O ovino apresentando a mesma sensibilidade que o bovino, substituiria esse, neste tipo de levantamento.

Objetivos complementares foram estudos sobre o quadro clínico-patológico na intoxicação por *Lantana camara* var. *aculeata* em ovinos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram feitos experimentos com *Lantana camara* var. *aculeata* em estado fresco e dessecado, sendo que com a planta dessecada os experimentos foram realizados 3, 6 e 12 meses após a coleta. As partes aéreas da planta foram coletadas no município de Quatis, RJ, na localidade de Falcão em 26 de julho e 16 de agosto de 1993. A planta fresca foi acondicionada em geladeira (4° a 6°C) e no dia seguinte administrada aos animais. A planta destinada à dessecação foi espalhada à sombra, em temperatura ambiente, revolvida diariamente até a completa desidratação e depois acondicionada em sacos de pano. As dosagens utilizadas tanto com a planta fresca quanto dessecada foram de 40 g/kg em dose única e 10 g/kg por dia durante 4 dias seguidos.

Quando se tratar de planta dessecada, a dosagem sempre foi, nesse trabalho, exprimida ao correspondente à planta fresca. A via de administração da planta foi oral e a planta dessecada era levemente umedecida durante a administração. A relação planta verde/dessecada foi de 4:1, sendo esta relação utilizada nos cálculos para administração da planta dessecada.

Foram utilizados 12 ovinos de ambos os sexos, sem raça definida, jovens e adultos clinicamente saudáveis e com pesos variando entre 12,5 e 29,5 kg (Quadro 1). Os animais eram mantidos em baias individuais de alvenaria e recebiam, pela manhã e à tarde, capim-angola (*Brachiaria mutica*) e capim-elefante (*Penisetum purpureum*) inteiros e água à vontade. Eram colocados no solário das 8:30h às 11:30h e das 13:30h às 16:30h.

Os exames clínicos eram realizados pela manhã e à tarde ou com maior frequência de acordo com o agravamento do quadro, e na fase terminal os animais eram observados continuamente.

Os parâmetros e as alterações avaliadas eram os seguintes: atitude, comportamento, grau de desidratação, temperatura retal, frequências cardíaca e respiratória, motilidade ruminal, coloração das mucosas, apetite, aspecto das fezes e urina, bem como frequência de evacuação e micção, sensibilidade hepática, reação de fotossensibilidade, alterações da pele e estado nutricional.

Em alguns animais avaliaram-se elementos anormais da urina com o auxílio de fitas reativas⁴ com observação do pH e a presença de nitritos, proteínas, glicose, corpos cetônicos, urobilogenio, bilirrubina, sangue e hemoglobina.

As necropsias foram realizadas imediatamente após a morte e fragmentos de diversos órgãos foram coletados e fixados em formol tamponado (PBS) a 10%, exceto o sistema nervoso central que foi fixado em formol PBS a 20%.

As amostras coletadas foram processadas pelos métodos usuais, incluídas em parafina, cortadas a 5µ de espessura e coradas pela técnica de hematoxilina-eosina (HE).

O trabalho foi executado no Setor de Anatomia Patológica do Convênio Projeto Saúde Animal da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, no município de Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro.

RESULTADOS

Os ovinos que receberam *Lantana camara* var. *aculeata* em estado dessecado 3, 6 e 12 meses após a coleta, apresentaram o mesmo quadro clínico-patológico daqueles que receberam a planta fresca.

Todos os 5 ovinos que ingeriram a dose de 40 g/kg da planta fresca ou dessecada adoeceram gravemente e morreram num período de 107h a 178h30min (4 a 7 dias) após o início da administração da planta. Nesses ovinos os primeiros sintomas foram observados entre 25h10min e 50h07min (2 a 3 dias) após o começo da administração da planta, com evolução clínica variando entre 51h50min e 139h30min (3 a 5 dias).

Dos 5 animais que receberam a dose de 10 g/kg ao dia, durante 4 dias, da planta fresca ou dessecada, 2 morreram (ov. 5094 e 5131) num prazo de 265h55min e 284h05min (11 dias) após o início da administração da planta. Os outros 3 ovinos recuperaram-se num período de 360h a 1.440h (15 a 60 dias) após a administração da planta. Dos animais que receberam essa dose, apenas o ovino 5112 adoeceu levemente, os outros dois adoeceram gravemente.

Os primeiros sintomas nos 5 animais que receberam 10g/kg ao dia, durante 4 dias, foram observados entre 46h15min e 96h (1 a 4 dias) após o começo da administração da planta e a evolução foi de 218h30min a 1.368h (9 a 57 dias).

O quadro clínico dos ovinos intoxicados por *L. camara* var. *aculeata*, nas duas dosagens utilizadas, mostrou-se bem uniforme, tanto nos ovinos que morreram quanto naqueles que se recuperaram, indiferentemente de terem recebido a planta em estado fresco ou dessecado. Sintomas de fotossensibilização como hiperemia, edema e necrose da pele, narinas ressecadas, o ato de procurar a sombra, coçar-se, sacudir o corpo como "cachorro molhado", inquietação, cavar o solo e deitar-se e levantar-se com frequência, estiveram presentes em quase todos os ovinos. O ovino 5112 apresentou só um discreto edema ao redor dos lábios e as narinas levemente ressecadas.

Nos ovinos que apresentaram evolução longa (34 a 57 dias) e conseguiram recuperar-se (ov. 5093 e 5125), houve uma segunda fase caracterizada por mumificação da pele,

⁴Tiras Reagentes Combur 8 (Merck).

Quadro 1. *Intoxicação por Lantana camara var. aculeata em bovinos. Delineamento experimental e desfecho*

Ovino no. (reg.SAP)	Peso kg	Administração				Desfecho	Início dos sintomas após adm. planta	Evolução	Recuperado após início adm. planta	Morte após início adm. planta
		Data	Natureza da planta	Número de dias de administração	Dose por dia g/kg					
5087 (26824-828)	12,5	17.8.93	Fresca	1	40	Morreu	30h	5d 19h 30min (aguda)	-	7d 2h 30min
5092 (26700-704)	26,5	27.7.93	Fresca	1	40	Morreu	45h 20min	5d 13h 10min (aguda)	-	7d 10h 30min
5093	26	27-30.7.93	Fresca	4	10	Adoeceu gravemente	72h	57 dias (crônica)	60 dias	-
5094 (26838-842)	41,5	17-20.7.93	Fresca	4	10	Morreu	46h 45min	9d 21h 20min (subaguda)	-	11d 20h 5min
5112	30	27-30.10.93	Dessecada ^b	4	10 ^a	Adoeceu levemente	96h	11dias (subaguda)	15 dias	-
5122 (27209-213)	29,5	30.10.93	Dessecada	1	40	Morreu	50h 7min	4d 14h 6min (aguda)	-	6d 16h 13min
5126 (27327-330)	25	1.2.94	Dessecada ^c	1	40	Morreu	25h 10min	2d 3h 50min (aguda)	-	4d 11h
5125	25	1-4.2.94	Dessecada	4	10	Adoeceu gravemente	46h 54min	34d 2h 30min (crônica)	37 dias	-
5130 (27500-503)	22	3.8.94	Dessecada ^d	1	40	Morreu	27h 10min	5d 1h 30min (aguda)	-	6d 4h 40min
5131 (27504-508)	18,5	3-6.8.94	Dessecada	4	10	Morreu	47h 25min	9d 2h 30min	-	11d1h55min
5132	19	Controle	-	-	-	Sem sintomas	-	-	-	-
5133	15	Controle	-	-	-	Sem sintomas	-	-	-	-

^a As doses indicadas sempre correspondem às da planta fresca (Relação planta fresca: planta dessecada= 4:1).

^b Planta coletada 3 meses antes de sua administração.

^c Planta coletada 6 meses antes de sua administração.

^d Planta coletada 12 meses antes de sua administração.

Quadro 2. Alterações histológicas do fígado, rim e adrenal de ovinos intoxicados experimentalmente por *Lantana camara var. aculeata*

Alterações	Ovino	5087 (26824 -828)	5092 (26700 -704)	5094 (26838 -842)	5122 (27209 -213)	5126 (27327 -330)	5130 (27500 -503)	5131 (27504 -508)
FÍGADO								
<i>Hepatócitos</i>								
Áreas de necrose de coagulação	-	-	++	-	+(+)	-	++(+)	-
Apoptose	(+)	(+)	-	-	(+)	++	++	+
Tumefação	+	+	++	+	++	++	++	+(+)
Vacuolização	+(+)	+(+)	-	-	-	(+)	+(+)	+(+)
Lise	+(+)	+(+)	-	(+)	-	+	+	+
Presença de pigmento biliar	+	+	-	(+)	+	-	(+)	+
Bilestase capilar	-	-	-	++(+)	-	-	(+)	(+)
Infiltração por macrófagos	+(+)	+(+)	-	-	-	-	+	-
<i>Células de Kupffer</i>								
Ativação	++	++	+	+	+	+	-	-
Proliferação	+	+	-	-	-	+	(+)	(+)
Presença de pigmento biliar	+	+	-	+	-	-	-	-
<i>Espaço de Disse</i>								
Edema	-	-	+(+)	(+)	+(+)	-	-	-
Presença de material protéico	-	-	+	(+)	+(+)	-	-	-
<i>Ductos biliares</i>								
Proliferação	+(+)	+(+)	-	-	-	+	+(+)	+
<i>Vasos</i>								
Presença de corpúsculos de choque	-	-	+	+	(+)	-	-	-
RIM								
<i>Glomérulos</i>								
Material protéico no espaço capsular	(+)	(+)	+(+)	+(+)	+	+++	+(+)	(+)
<i>Células epiteliais tubulares</i>								
Granulação citoplasmática	++	++	++	+(+)	+	+	++	+
Tumefação	+	+	+(+)	+(+)	++	+	++	+
Lise	(+)	(+)	(+)	-	+(+)	(+)	+	-
Picnose	+	+	++	+	(+)	(+)	+(+)	(+)
Presença de pigmento biliar	-	-	-	++	-	-	-	-
<i>Luz dos túbulos</i>								
Presença de material protéico	+	+	++	+(+)	+	+	+(+)	(+)
Cilindros granulosos	-	-	(+)	+	(+)	(+)	(+)	-
ADRENAL								
<i>Células da zona fasciculada</i>								
Tumefação	+	+	+	+(+)	(+)	(+)	+(+)	+
Vacuolização	-	-	(+)	-	-	(+)	-	-
<i>Vasos da cortex</i>								
Presença de corpúsculos de choque	-	-	-	(+)	-	-	-	-

com despreendimento de fragmentos de pele necrosada deixando à mostra uma pele fina e sensível que em algumas áreas adquiria contaminação secundária. Aos poucos ocorria a reepitelização e novo manto piloso cobria os locais afetados, mas o emagrecimento desses animais foi bem evidente.

Na fase inicial os animais mostraram inquietação; nos estádios mais graves e/ou na fase terminal surgia apatia. A inquietação era mais intensa quando os animais eram expostos ao sol forte e quando o edema evoluía de forma mais grave. O ovino 5112 não evidenciou, de forma marcante, estes sintomas. O apetite diminuía gradativamente e na fase terminal instalava-se anorexia; as erosões e úlceras da mucosa oral (ov. 5094) e os edemas acentuados da face (ov. 5092, 5094, 5087 e 5122) dificultavam a apreensão e mastigação dos alimentos; ao mesmo tempo esses sintomas cursavam com uma diminuição da motilidade do rúmen. Nos ovinos que apresentaram esses sintomas e se recuperaram (ov. 5093 e 5125) o apetite e a freqüência dos movimentos do rúmen voltaram ao normal gradativamente. De um modo geral a motilidade ruminal regrediu na maioria dos ovinos, ao longo do experimento; nos animais que morreram, a fase terminal culminava com atonia do rúmen. Os ovinos 5112 e 5122 não apresentaram alterações da motilidade ruminal. As fezes geralmente ficavam escassas, agrupadas por muco, ressecadas e escuras, muitas vezes em forma de pequenos cilindros, principalmente na fase final. Os ovinos 5087, 5092, 5093, 5094, 5112 e 5122 apresentaram fezes pastosas em alguma fase do experimento, mas geralmente no início.

A temperatura retal manteve-se elevada no ovino 5125, até o 5º dia após a administração da planta, mas em geral havia pequena elevação após exposição ao sol; na fase terminal os animais desenvolviam hipotermia. As alterações cardíacas relacionaram-se com a freqüência dos batimentos que mantiveram-se nos limites superiores no ovino 5125 ou elevada até o final em quase todos os ovinos; no ovino 5112 elevou-se discretamente no início, mas logo normalizou-se. Não observaram-se alterações respiratórias, exceto na fase terminal do ovino 5122 que mostrou crises de dispnéia e apnéia.

A desidratação e a polidipsia foram achados constantes em todos os ovinos (exceto ov. 5092 e 5131). Dois animais (ov. 5087 e 5126) tinham sialorréia em gotejamento ou sob forma de espuma branca. Os ovinos 5112, 5122 e 5125 apresentaram polaciúria. A cor da urina geralmente variava de amarelo-ouro a castanho. O ovino 5112, apesar da polaciúria, tinha urina de cor normal. A análise química da urina de alguns ovinos revelou alterações, tais como: presença de proteínas (ov. 5125 e 5126 no 5º dia, ov. 5130 e 5131 do 1º ao 5º e do 2º ao 9º dia, respectivamente) e níveis moderados a intensos de bilirrubina (ov. 5125, 5126 e 5122 no 5º, ov. 5130 do 1º ao 5º dia e ov. 5131 do 2º ao 9º dia após administração da planta).

Sensibilidade hepática à percussão foi notada em todos os ovinos, exceto no ovino 5125. A dor demonstrada

variou de reações discretas a intensas. A tendência ao decúbito também foi observada em quase todos os ovinos (exceto ov. 5112). Os ovinos 5087, 5094 e 5122, que tiveram êxito letal, reagiram fortemente à percussão do fígado.

Afora o ovino 5112, a icterícia foi um sinal constante e com intensidade que variou de moderada a acentuada.

Mioclônias foram evidenciadas geralmente no início da patência com um grau leve a moderado, ocasionais e incidindo nos músculos da cabeça e do pescoço de forma mais marcante, mas também apresentavam-se de forma generalizada. Só o ovino 5112 não apresentou tremores musculares.

O emagrecimento foi marcante nos ovinos 5093, 5094, 5130 e 5131 e discreto no ovino 5112.

Os mais importantes achados de necropsia, além da icterícia generalizada, ocorreram na pele, no fígado, na vesícula biliar e nas adrenais. Na pele as lesões foram edema e necrose. O fígado era mais claro, amarelado e com a lobulação perceptível. A vesícula biliar estava distendida e repleta de bile aquosa, fluida, de cor amarelada. As adrenais estavam levemente aumentadas. As principais alterações histológicas foram observadas no fígado, rim e adrenais; detalhes dessas lesões constam no Quadro 2.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os resultados obtidos na intoxicação experimental por *L. camara* var. *aculeata* em ovinos demonstram que a dessecação da planta à sombra e sua estocagem em sacos de pano por um período de até 12 meses não modificou suas propriedades tóxicas. Ficou esclarecido ainda, que a dose única de 40 g/kg é sempre letal e que a dose de 10 g/kg ao dia, durante 4 dias consecutivos, causa doença grave (com exceção do animal 5112 que adoeceu levemente), podendo ou não causar morte. Notou-se ainda que com a dose de 40 g/kg de uma só vez, da planta fresca ou dessecada, a evolução clínica é aguda e com a dose de 10 g/kg ao dia, durante 4 dias seguidos, a evolução varia de subaguda a crônica. O quadro clínico-patológico foi de fotossensibilização hepatógena, e homogêneo em todos os animais.

Uma comparação da intoxicação por *Lantana camara* var. *aculeata* entre bovinos e ovinos mostra que estas duas espécies animais têm a mesma sensibilidade à toxidez desta planta, apresentando quadros clínico-patológicos semelhantes. Armién (1992) reproduziu a intoxicação letal em 2 bovinos: em um com a dose única de 40 g/kg, em outro com a dose de 10 g/kg ao dia, durante 4 dias seguidos, com a planta fresca da mesma procedência daquela que utilizamos nos ovinos. Tokarnia et al. (1984) reproduziram a intoxicação letal em bovinos, com doses semelhantes, com *Lantana camara* var. *nivea* e *Lantana tiliaefolia*, procedentes respectivamente dos municípios de Cabo Frio, RJ e Cáceres, MT. Já Riet-Correa et al. (1984) reproduziram, em bovinos, com *Lantana glutinosa*, procedente de Santa Catarina, quadro de fotossensibilização letal com dose única de 10 g/kg, da planta fresca.

Comparando-se os resultados obtidos dos trabalhos feitos com as diversas lantanas tóxicas no Brasil (Riet-Correa et al. 1984, Tokarnia et al. 1984, Armién 1992) e diante da semelhança de sensibilidade apresentada entre bovinos e ovinos do presente trabalho, demonstrada pela homogeneidade dos quadros clínico-patológicos entre as duas espécies, concluímos que os ovinos prestam-se para substituir os bovinos na verificação da toxidez das lantanas no Brasil, usando-se tanto a planta fresca quanto dessecada, até 12 meses após a coleta.

A dose única de 40 g/kg seria a mais indicada, pois, em todos os experimentos, causou quadro de fotossensibilização letal. Uma alternativa seria a administração de 10 g/kg ao dia, durante 4 dias seguidos, pois, na maioria dos casos, causou grave intoxicação dos ovinos, às vezes fatal.

Essa metodologia oferece vantagens frente à utilização dos bovinos por ser o ovino um animal de menor custo e de maior facilidade de manejo, tornando-se os experimentos mais econômicos. A possibilidade de se poder usar a planta dessecada e guardada à temperatura ambiente em até 12 meses, vem a facilitar, em muito, esse trabalho de levantamento.

REFERÊNCIAS

- Armién A.G. 1992. Comunicação pessoal (Médico Veterinário, Convênio Embrapa/UFRRJ, Seropédica, Rio de Janeiro).
- Riet-Correa F., Méndez M.C., Schild A.L., Riet-Correa I. & Silva Neto S.R. 1984. Intoxicação por *Lantana glutinosa* (Verbenaceae) em bovinos no Estado de Santa Catarina. *Pesq. Vet. Bras.* 4(4):147-153.
- Döbereiner J., Lazzari A.A. & Peixoto P.V. 1984. Intoxicação por *Lantana* spp. (Verbenaceae) em bovinos nos Estados de Mato Grosso e Rio de Janeiro. *Pesq. Vet. Bras.* 4(4):129-141.

CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DA ÁGUA UTILIZADA NO PROCESSO DE OBTENÇÃO DO LEITE¹

LUIZ AUGUSTO DO AMARAL², ANTONIO NADER FILHO², OSWALDO DURIVAL ROSSI
JUNIOR² e LUCIA HELENA DE CARVALHO PENHA³

ABSTRACT.- Amaral L.A., Nader Filho A., Rossi Júnior O.D. & Penha L.H.C. 1995. [**Microbiological characteristics of the water used in the milk production process.**] Características microbiológicas da água utilizada no processo de obtenção do leite. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 15(2/3):85-88. Depto Medicina Veterinária Preventiva, Fac. Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp-Jaboticabal, SP 14870-000, Brazil.

One hundred samples of the water used for milk production on 10 dairy farms were submitted to counts of total and fecal coliforms, mesophilic microorganisms, *Staphylococcus aureus*, coagulase negative *Staphylococcus* and *Escherichia coli*. The numbers of the indicator microorganisms showed the deficient hygienic and sanitary conditions on the farms. The results showed also the presence of *S. aureus*, coagulase negative *Staphylococcus* and *E. coli* in 4 (4.0%), 52 (52.0%) and 26 (26.0%) samples respectively. The counts indicate that the water examined is a potential hazard for the sanitary conditions of the mammary gland and the microbiological quality of the milk.

INDEX TERMS: Water, hygiene, milk, milking.

SINOPSE.- Foram realizados contagens de coliformes totais, coliformes fecais, microrganismos mesófilos, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulase negativa e de *Escherichia coli* em 100 amostras de água utilizada na higienização de animais, equipamentos e utensílios de ordenha, oriundo de 10 propriedades leiteiras. Além da precária qualidade higiênico-sanitária verificada através das pesquisas dos microrganismos indicadores, os resultados obtidos evidenciaram, também, a presença de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulase negativa e de *Escherichia coli* em 4 (4,0%), 52 (52,0%) e 26 (26,0%) amostras, respectivamente. Tais achados sugerem que as águas analisadas podem representar importante risco potencial tanto para o estado sanitário da glândula mamária como para a qualidade microbiológica do leite.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Água, higiene, leite, ordenha.

INTRODUÇÃO

Inúmeras propriedades rurais utilizam no processo de obtenção do leite a água oriundo de lençóis subterrâneos, desprovida de qualquer forma de tratamento. Embora não existam padrões específicos para a água empregada com esta finalidade, Robinson (1987) afirma ser necessário que

este produto apresente características bacteriológicas semelhantes às da água potável.

Apesar da enorme confiança demonstrada por produtores e técnicos a respeito da qualidade da água obtida em lençóis subterrâneos, alguns autores concordam em afirmar que este produto pode constituir-se em importante fonte de contaminação bacteriana para o úbere, equipamentos, utensílios e, conseqüentemente, para o leite (Galton 1982).

Vários são os fatores que podem contribuir para a contaminação das águas subterrâneas, dentre os quais destaca-se a ubiquidade de determinados microrganismos, especialmente daqueles pertencentes ao grupo dos coliformes e aos gêneros *Staphylococcus* spp e *Pseudomonas* spp (Robinson 1987, Filip et al. 1988, Schukken et al. 1991).

Segundo Filip et al. (1988), *Staphylococcus* coagulase positiva, *Staphylococcus* coagulase negativa e *Escherichia coli*, podem sobreviver na água por um período de 30, 30 e 300 dias, respectivamente, tempo suficiente para serem carreados ao processo de obtenção do leite. Em decorrência deste fato, além da contaminação e, conseqüentemente, do comprometimento da qualidade deste produto, pode ocorrer um aumento do risco de aparecimento de casos de mastite.

A este respeito, Robinson (1987) afirma que a água de lavagem de úberes quando intensamente contaminadas por *Pseudomonas* spp e coliformes, pode ser responsabilizada por surtos de mastite causada por estes microrganismos.

¹Aceito para publicação em 5 de junho de 1995.

²Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp-Campus de Jaboticabal (Unesp-FCAVJ), Jaboticabal, SP 14870-000.

³Bolsista de Iniciação Científica CNPq, Unesp/FCAVJ.

Segundo Schukken et al. (1991), ocorre um aumento do risco da ocorrência de mastite por *Staphylococcus aureus*, quando a água utilizada na produção do leite não sofre qualquer processo de tratamento.

Tendo em vista o exposto e considerando a ausência de informações a este respeito em nosso meio, idealizou-se o presente estudo com o objetivo de conhecer a qualidade higiênico-sanitária da água oriundo de lençóis subterrâneos empregada no processo de obtenção do leite, e também para obter subsídios que permitam avaliar o risco potencial que a água pode representar para o estado sanitário do úbere para a qualidade microbiológica do leite.

MATERIAL E MÉTODOS

Propriedades rurais

A pesquisa foi realizada em 10 propriedades rurais produtoras de leite dos tipos A, B e C, localizadas na região de Jaboticabal, Estado de São Paulo, nas quais adotavam-se a ordenha mecânica, realizada duas vezes ao dia.

Fontes de abastecimento de água

As fontes de abastecimento de água disponíveis nas propriedades objeto desta investigação eram constituídas por 5 poços artesanais ou semi-artesianos, 3 minas, 1 poço raso e 1 córrego. A captação da água era realizada através de bombas de sucção, sendo o armazenamento efetuado em reservatórios aéreos e a distribuição realizada por canalização subterrânea até os diferentes pontos de utilização.

Amostras de água

Durante o período de setembro de 1993 a junho de 1994, colhia-se, mensalmente, de acordo com a técnica preconizada pela APHA (1985), uma amostra da água utilizada na higienização dos animais, equipamentos e utensílios de ordenha em cada propriedade rural, de modo a totalizar 100 amostras.

As referidas amostras foram obtidas diretamente das mangueiras com água sob pressão existentes na sala de ordenha e, após o acondicionamento em caixa de material isotérmico ("isopor"), contendo cubos de gelo, eram imediatamente transportadas para os laboratórios do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp-Campus de Jaboticabal, onde realizavam-se as análises microbiológicas.

Análises microbiológicas

As amostras foram submetidas às contagens de coliformes totais, coliformes fecais (APHA 1985), microrganismos mesófilos (APHA 1985), *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase negativa* (Lechevallier & Seidler 1980) e de *Escherichia coli* (APHA 1985).

As contagens de coliformes totais e de coliformes fecais foram realizadas a partir de volumes de 100 ml, 50 ml e de 10 ml de cada amostra de água, filtrados através do emprêgo de aparelho contendo membranas filtrantes com porosidade de 0,45µm.

Coliformes totais

Após a realização do processo de filtração, as membranas eram transferidas para a superfície das placas de Petri contendo Ágar M-Endo Less, as quais eram incubadas a 35°C por 24 horas em atmosfera cuja umidade relativa situava-se em torno de 90%.

A quantificação das colônias foi efetuada em aparelho apropriado, sendo contadas as colônias cuja coloração variava do rosa ao vermelho escuro, acompanhadas de brilho verde metálico dourado. Em seguida, pelo menos 5 colônias isoladas de cada amostra eram transferidas para tubos de ensaio contendo caldo lactosado (CL) e caldo lactosado bile verde brilhante 2% (CLBVB).

Após a incubação a 35°C por 48 horas, eram confirmadas como pertencentes ao grupo dos coliformes as colônias que apresentavam a produção de gás nos tubos de ensaio contendo CLBVB. Caso houvesse a produção de gás apenas em CL, alíquotas desta cultura eram novamente transferidas para CLBVB e incubadas a 35°C por 48 horas.

Coliformes fecais

Após a realização do processo de filtração das amostras, as membranas eram transferidas para placas de Petri contendo Ágar M-FC, as quais eram acondicionadas em sacos plásticos herméticamente fechados, sendo em seguida incubadas em banho maria a $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ por 24 horas. Decorrido este espaço de tempo, através da utilização de aparelho apropriado, efetuava-se a quantificação das colônias que apresentavam coloração azul.

Microrganismos mesófilos

Para a realização da contagem de microrganismos mesófilos, 1,0 ml da amostra e de suas diluições decimais eram depositados, em duplicata, em placas de Petri esterilizadas, aos quais adicionavam-se cerca de 15 ml de Ágar padrão previamente fundido e resfriado a temperatura em torno de 45°C. Após a homogeneização e solidificação em temperatura ambiente, as placas eram incubadas a 37°C por 48 horas.

As contagens foram realizadas em aparelho apropriado, sendo selecionadas as placas que apresentavam entre 30 e 300 colônias. A média do número de colônias contadas nas placas em duplicata, multiplicada pelo fator de diluição correspondente e por 100, expressava o número de microrganismos mesófilos por 100 ml da amostra.

Staphylococcus aureus e *Staphylococcus coagulase negativa*

Para a realização das contagens destes microrganismos, foram filtrados 100 ml da amostra de água em aparelho contendo membrana com porosidade de 0,45µm. Após a filtração as membranas eram transferidas para a superfície de placas de Petri contendo Ágar *Staphylococcus* 110 e incubadas a 35°C por 48 horas. Decorrido este espaço de tempo, as colônias isoladas foram semeadas em ágar nutriente inclinado e incubadas a 35°C por 24 horas.

Após a incubação foram preparados esfregaços corados pelo método de Gram, sendo as cepas que apresentavam cocos Gram positivos dispostos sob a forma de cachos de uva, submetidas à identificação bioquímica, através das provas da coagulase, termonuclease, produção de catalase e acetoina, utilização em aerobiose da maltose e trealose e do manitol em aerobiose e anaerobiose, e a prova de oxidação e fermentação da glicose (MacFadin 1976).

Escherichia coli

A contagem de *E. coli* era realizada a partir das colônias características de coliformes fecais isoladas no Ágar M-FC. Assim sendo, semeavam-se entre 3 e 5 colônias em placas de Petri contendo Ágar eosina-azul de metileno e incubava-se a 35°C por 24 horas. Após a incubação, procedia-se o isolamento de colônias

negras, secas, chatas e com brilho metálico, as quais eram semeadas em Ágar nutriente inclinado.

Após a incubação a 35°C por 24 horas, preparava-se esfregaço corado pelo método de Gram, com a finalidade de verificar a morfologia bacteriana, representada pela presença de bastonetes Gram negativos, os quais eram submetidos às provas bioquímicas caracterizadas pelo indol, vermelho de metila, Voges-Proskauer e do aproveitamento do citrato, sendo, portanto, caracterizadas como *E. coli* as cepas que apresentavam resultados $\pm + - -$, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Quadro 1 mostra os valores médios das contagens de coliformes totais, coliformes fecais e de microrganismos mesófilos nas amostras de água das propriedades leiteiras investigadas na região de Jaboticabal, SP. Observa-se que os valores médio das contagens de coliformes totais, coliformes fecais e de microrganismos mesófilos variaram de zero a 3.695/100 ml, zero a 167/100 ml e de 1.370 a 783.900/100 ml, respectivamente.

A análise dos dados constantes desse Quadro revela que apenas as amostras de água obtidas em uma única propriedade leiteira apresentou características bacteriológicas próximas àquelas estabelecidas para a água potável. Apesar de não existir padrões específicos para a água empregada no processo de obtenção do leite, Robinson (1987) afirma ser necessário que este produto apresente características bacteriológicas semelhantes às da água potável.

Quadro 1. Valores médios das contagens de coliformes totais coliformes fecais e de microrganismos mesófilos nas amostras de água das propriedades leiteiras da região de Jaboticabal, SP, 1994

Propriedades	Coliformes totais (ufc/100ml)	Coliformes fecais (ufc/100ml)	Microrganismos mesófilos (ufc/100ml)
A	39,0	2,6	631.000,0
B	0,0	0,0	1.370,0
C	3.695,0	154,0	783.900,0
D	2.388,0	39,7	29.000,0
E	88,8	7,2	28.600,0
F	276,0	130,0	23.300,0
G	6,8	0,1	9.420,0
H	344,0	167,4	54.000,0
I	347,0	25,1	37.330,0
J	301,0	80,0	50.000,0

A este respeito, o Ministério da Saúde (1990), através da Portaria nº 36 de 19/01/1990, estabelece que a água potável deve apresentar ausência de coliformes fecais em 100 ml da amostra. Com relação aos coliformes totais, para a água sem tratamento, a referida Portaria determina que 98% das amostras analisadas deverão apresentar ausência de coliformes totais em 100 ml e, nos 2% restantes, serão tolerados até 3 coliformes totais por 100 ml das amostras. A Portaria supra citada estabelece, ainda, que o número de microrganismos mesófilos não deve exceder a 500 ufc/ml.

Através dos resultados obtidos nas contagens dos referidos microrganismos indicadores, pode-se afirmar que a água oriundo dos lençóis subterrâneos de 9 (90,0%) propriedades leiteiras objeto desta investigação, apresentava precária qualidade higiênico-sanitária.

Helmer (1975) afirma que contaminação da água pode ocorrer nas fontes de captação, nos reservatórios e/ou nas redes de distribuição. Sabe-se, também, que nas propriedades rurais geralmente ocorre a disposição inadequada de resíduos orgânicos oriundo das atividades humana e animal, fato este que propicia maior oportunidade de contaminação da água, especialmente nas fontes de captação e nas redes de distribuição.

O Quadro 2 mostra os valores médios das contagens de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulase negativa e de *Escherichia coli* nas amostras de água das propriedades leiteiras investigadas na região de Jaboticabal, SP. Verifica-se que os valores médios das contagens de *S. aureus*, *Staphylococcus* coagulase negativa e de *E. coli* variaram de zero a 16,6/100 ml, 0,2 a 124,0/100 ml e de zero a 87,3/100 ml, respectivamente.

Quadro 2. Valores médios das contagens de *S. aureus*, *Staphylococcus coagulase negativa* e de *E. coli* nas amostras de água das propriedades leiteiras da região de Jaboticabal, SP, 1994

Propriedades	<i>S. aureus</i> (ufc/100ml)	<i>Staphylococcus</i> coagulase (-) (ufc/10ml)	<i>E. coli</i> (ufc/100ml)
A	0,8	16,6	1,2
B	0,9	0,2	0,0
C	16,6	124,0	13,3
D	0,0	52,8	5,9
E	0,0	2,8	1,1
F	0,0	102,0	87,3
G	0,0	2,6	0,0
H	0,0	19,9	0,0
I	0,0	13,0	13,3
J	0,0	15,7	58,8

A análise dos dados constantes do Quadro 2 revela que nas amostras de água oriundo das propriedades estudadas isolou-se pelo menos um dos microrganismos investigados. Tais achados são preocupantes, uma vez que os referidos microrganismos constituem-se em importantes agentes etiológicos da mastite.

Tais achados além de corroborarem com a afirmação de Schukken et al. (1991), sugerem, também, que a água oriundo de lençóis subterrâneos empregada no processo de obtenção do leite pode representar importante risco potencial tanto para a qualidade microbiológica do leite como para o estado sanitário da glândula mamária.

Agradecimentos.- Aos médicos veterinários Omar Garcia e Luiz Roberto Amâncio, da Cooperativa de Plantadores de Cana da Zona de Guariba (COPLAN), pelo valioso auxílio oferecido por ocasião da colheita de amostras de água.

REFERÊNCIAS

- American Public Health Association 1985. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 16th ed. New York. 423p.
- Filip A., Kaddu-Malindwad D. & Mild G. 1988. Survival and adhesion of some pathogenic and facultative pathogenic microorganisms in groundwater. Water Sci. Tech. 19:1189.
- Galton D.M., Adkinson R.W., Thomas C.V. & Smith T.W. 1982. Effects of premilking udder preparation on environmental bacterial contamination of milk. J. Dairy Sci. 65:1540-1543.
- Helmer R. 1975. La lucha contra la contaminacion del agua. Cron. OMS 29:465-472.
- Lechevallier M.S. & Seidler R.J. 1980. *Staphylococcus aureus* in rural drinking water. Appl. Environ. Microbiol. 30(4):739-742.
- MacFadin J.F. 1976. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. William & Wilkins, Baltimore. 312p.
- Ministério da Saúde 1990. Normas e padrões de potabilidade da água para consumo humano. Diário Oficial da União, p. 1650-1654.
- Robinson R.K. 1987. Microbiologia Lactologica - Microbiología de la Leche. Acriba, Zaragoza (España). 230p.
- Schukken Y.H., Grommer F.J., Van De Greer D., Erb H.N. & Brand A. 1991. Risk factors for clinical mastitis in herds with low bulk milk somatic cell count. 2. Risk factors for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. J. Dairy Sci. 74:826-832.