

ISSN 0100-736X

Volume 10 Números 3/4
Jul/Dez 1990

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 datilografados de acordo com as instruções publicadas na própria revista.

Editorial Policy

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

Corpo Editorial (Editorial Board)

Editor: Jürgen Döbereiner. **Editores Adjuntos:** Severo Sales de Barros, Osmane Hipólito, Jerome Langenegger, Hugo Barboza de Rezende, Adayr 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, Francisco Megale, 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, Embrapa - NPSA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851 (Brasil); tel. (021) 682-1081 e 682-1082; telex (21) 32723 EBPA BR.

PROGRAMA DE APOIO A PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS



A Revista conta com a colaboração da Embrapa e UFRRJ

Figura da capa: *Senecio brasiliensis* (Spreng.) Lessing (Compositae) em plena floração, uma das mais importantes plantas tóxicas de interesse pecuário na Região Sul do Brasil. (Méndez et al., p. 63)

Cover illustration: *Senecio brasiliensis* (Spreng.) Lessing (Compositae) in its flowering state, one of the most important poisonous plants of interest to animal husbandry in southern Brazil. (Méndez et al., p. 63)

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

a) os trabalhos devem ser datilografados em uma só face do papel, em espaço duplo e com margens de, no mínimo, 2,5 cm; o texto será escrito corridamente; 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 corridamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas;

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

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

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

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

3. As *figuras* (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) deverão ser apresentadas em tamanho maior (cerca de 150%) do que aquele em que devam ser impressas, com todas as letras ou sinais bem proporcionados para assegurar a nitidez após a redução para o tamanho desejado; parte alguma da figura será datilograda; 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 datilogradas 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 de 12 batidas, à esquerda.

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

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

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

Volume 10

Julho/Dezembro 1990

Números 3/4

SUMÁRIO

- Intoxicação por *Cassia occidentalis* (Leg. Caes.) em bovinos.** *C.S.L. Barros, C. Pilati, M.B. Andujar, D.L. Graça, L.F. Irigoyen, S.T. Lopes & C.F. Santos* 47-58
- Avaliação do efeito imunoprotetor de diferentes vacinas contra *Corynebacterium pseudotuberculosis* em caprinos.** *D.C. Carvalho, R. Schaer, C. Brodskyn, I.L.O. Nascimento, S. Freire & R. Meyer* 59-62
- Intoxicação experimental por cinco espécies de *Senecio* em bovinos e aves.** *M.C. Méndez, F. Riet-Correa, A.L. Schild & W. Martz* 63-69
- Intoxicação experimental por *Sessea brasiliensis* (Solanaceae) em bovinos, ovinos e caprinos.** *J.H.F. Chaulet, P.V. Peixoto & C.H. Tokarnia* 71-84
- Influência do nível protéico e/ou da acidificação da dieta sobre a diarreia pós-desmame em leitões causada por *Escherichia coli*.** *N. Mores, J.L.L. Marques, J. Sobestiansky, A. Oliveira & L.S.S. Coelho* 85-88

CONTENTS

- Cassia occidentalis* (Leg. Caes.) poisoning in cattle.** *C.S.L. Barros, C. Pilati, M.B. Andujar, D.L. Graça, L.F. Irigoyen, S.T. Lopes & C.F. Santos* 47-58
- Levels of immunoprotection induced in goats against *Corynebacterium pseudotuberculosis* using several types of vaccines.** *D.C. Carvalho, R. Schaer, Brodskyn, I.L.O. Nascimento, S. Freire & R. Meyer* 59-62
- Experimental poisoning of cattle and chicks by five *Senecio* species.** *M.C. Méndez, F. Riet-Correa, A.L. Schild & W. Martz* 63-69
- Experimental poisoning of bovinos, ovinos and goats by *Sessea brasiliensis* (Solanaceae).** *J.H.F. Chaulet, P.V. Peixoto & C.H. Tokarnia* 71-84
- Effect of pigs diet protein level and/or acidification in the *Escherichia coli* post-weaning diarrhea.** *N. Mores, J.L.L. Marques, J. Sobestiansky, A. Oliveira & L.S.S. Coelho* 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.

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)

XXIV Congresso Mundial de Veterinária, Rio de Janeiro, Brasil, 18-23.8.1991

(Secretaria: Congrex do Brasil, Rua do Ouvidor 60/414, Rio de Janeiro, RJ; Phone (021) 224-6080, Telex (21) 32891 CERT-BR, Fax (021) 231-1492)

INTOXICAÇÃO POR *Cassia occidentalis* (Leg. Caes.) EM BOVINOS¹

CLAUDIO S. L. BARROS², CELSO PILATI³, MAURÍCIO B. ANDUJAR², DOMINGUITA L. GRAÇA², LUIS F. IRIGOYEN³, SONIA T. LOPES⁴ e CLODOVEO F. SANTOS⁵

ABSTRACT.- Barros C.S.L., Pilati C., Andujar M.B., Graça D.L., Irigoyen L.F., Lopes S.T. & Santos C.F. 1990. [Cassia occidentalis (Leg. Caes.) poisoning in cattle.] Intoxicação por *Cassia occidentalis* (Leg. Caes.) em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 10(3/4):47-58. Depto Patologia, Univ. Fed. Santa Maria, 97119 Santa Maria, RS, Brazil.

An outbreak of spontaneous poisoning by *Cassia occidentalis* in cattle and the experimental reproduction of the disease in calves are described. In the natural occurring disease, 37 bovines of four farms in Rio Grande do Sul, Brazil, died several days after they had been introduced to a diet which included ground sorghum contaminated by 10% of *C. occidentalis* seeds. The affected animals presented an afebrile disease characterized by diarrhea and muscle weakness. There was incoordination of gait, muscle tremors, reluctance to move, periods of sternal recumbency, lateral recumbency and death. Even in the stages of sternal recumbency, most of the affected animals remained bright and kept their appetite. The clinical course varied from 1 to 2 weeks. Some animals which developed clinical signs, but not recumbency, recovered. At necropsy of three bovines, pale areas of discoloration could be observed in the heavy muscles of the rump and thigh and a dark brown discoloration was present in the urine. Experimental reproduction of the disease was achieved in four calves. The contaminant *C. occidentalis* seeds present in the sorghum were manually separated, grounded, mixed with water and fed orally to calves 1 and 2 with a bottle, in a total dosis of 10g/kg (1% of the body weight). Calf 1 received the plant in two administrations (8g/kg and 2g/kg) two days apart, and calf 2 received five consecutive daily doses of 0.2g/kg. Calves 3 and 4 received the sorghum contaminated with the *Cassia* seeds in the same way in which they were administered in the four farms where the problem occurred. A control calf received only the sorghum after it had been freed from the *C. occidentalis* seeds. Calves 1 and 2 died respectively 5 and 6 days after the first administration of the plant, calf 3 after 12 days of being introduced to the contaminated sorghum ration, and calf 4 was sacrificed after 15 days of being on this same ration and when it presented overt clinical signs of poisoning. The clinical disease in these 4 animals was very similar to the spontaneous outbreak. Diarrhea, muscular tremors, incoordination of gait, reluctance to move, sternal recumbency, lateral recumbency and death were observed. Acceleration of respiratory movements and cardiac beats and marked increase in the seric CPK were observed in the terminal phases of the disease. At necropsy pale areas of discoloration were observed in the skeletal muscles, mainly in those of the hind limbs. Pale areas, barely visible, were also present in the myocardium. The livers of calves 1 and 2 were swollen, light-brown and with slight nutmeg aspect of the cut surface. At light microscopy the more striking lesions were present in the skeletal muscles and were those of interstitial edema, swelling of fibers, hialine and floccular degeneration with rupture of fibers. The lesions in the myocardium were less marked and characterized by fine vacuolation of myocardial fibers. Diffuse degenerative changes were observed in the hepatic parenchyma of calves 1 and 2. At electron microscopic examination the fine vacuoles observed in the light microscopy in the myocardial fibers revealed to be swollen mitochondria. Electron dense inclusions and disruption of cristae were observed within these mitochondria. In the skeletal muscle various degrees of degenerative and necrotic changes were observed. The control calf was normal when sacrificed 30 days after the end of the experiment. At necropsy and upon histologic examination of various tissues including skeletal muscle and myocardium, no lesions were observed.

INDEX TERMS: Poisonous plants, Leguminosae Caesalpinoideae, *Cassia occidentalis*, *Senna occidentalis*, pathology, cattle disease, myopathies, toxic myopathies.

¹ Aceito para publicação em 27 de dezembro de 1988.
Esse trabalho foi parcialmente financiado pela Volkswagenwerk Foundation.

² Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97119 Santa Maria, Rio Grande do Sul; bolsista do CNPq.

³ Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Patologia, UFSM, 97119 Santa Maria, RS.

⁴ Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Clínica, UFSM, 97119 Santa Maria, RS.

⁵ Cooperativa Agroindustrial de Alegrete Ltda, Rua Venâncio Aires 478, Alegrete, RS 97540.

SINOPSE.- São descritos um surto espontâneo da intoxicação por *Cassia occidentalis* em bovinos e a reprodução experimental da doença nessa espécie. No surto espontâneo, 37 bovinos de quatro estabelecimentos rurais no Rio Grande do Sul morreram vários dias após terem sido introduzidos numa dieta que incluía grãos de sorgo contaminados por 10% de sementes de *C. occidentalis*. Os animais afetados apresentaram uma doença afebril caracterizada por diarreia e fraqueza muscular. Havia incoordenação, tremores musculares, relutância em mover-se, períodos de decúbito esternal, decúbito lateral e morte. Mesmo nos estágios de decúbito esternal, a maioria dos animais afetados permaneceu alerta e conservou o apetite. A evolução clínica variou entre 1 e 2 semanas. Alguns animais que desenvolveram sintomas, mas não decúbito, se recuperaram. À necropsia de três bovinos, áreas pálidas podiam ser observadas nos músculos da região glútea e da coxa; a urina tinha cor marron escura. A doença foi reproduzida experimentalmente em quatro terneiros. As sementes contaminantes de *C. occidentalis* presentes no sorgo foram manualmente separadas, moídas, misturadas em água e administradas oralmente através de garrafa aos terneiros 1 e 2, num total de 10g/kg (1% do peso corporal) a cada terneiro. O terneiro 1 recebeu a planta em duas administrações (8g/kg e 2g/kg), com intervalo de dois dias entre as administrações e o terneiro 2 recebeu cinco administrações diárias consecutivas de 0,2g/kg. Os terneiros 3 e 4 receberam o sorgo contaminado com as sementes de *C. occidentalis*, na mesma maneira em que era administrado nos quatro estabelecimentos onde o surto espontâneo ocorreu. Um bovino controle recebeu apenas o sorgo após terem sido retiradas as sementes de *C. occidentalis*. Os terneiros 1 e 2 morreram respectivamente 5 e 6 dias após a primeira administração da planta, o terneiro 3 após 12 dias do início da alimentação com sorgo contaminado por sementes de *C. occidentalis* e o terneiro 4 foi sacrificado após 15 dias do início da alimentação com o mesmo sorgo contaminado e após estar apresentando sinais clínicos evidentes da intoxicação. A doença clínica nesses quatro animais foi muito semelhante à doença espontânea. Observaram-se diarreia, tremores musculares, andar incoordenado, relutância em mover-se, decúbito esternal, decúbito lateral e morte. Aumento da frequência dos movimentos respiratórios e dos batimentos cardíacos e uma acentuada elevação nos níveis séricos de CPK foram observados nas fases finais da doença. À necropsia, áreas pálidas foram observadas nos músculos esqueléticos, principalmente nos músculos dos membros posteriores. Àreas pálidas, quase imperceptíveis, foram vistas também no miocárdio. Os fígados dos terneiros 1 e 2 estavam tumefeitos, marrom-claros e com moderado aspecto de noz-moscada à superfície de corte. À microscopia óptica as lesões mais evidentes estavam presentes nos músculos esqueléticos e se caracterizavam por edema intersticial, tumefação de fibras e degeneração flocular e hialina com ruptura de fibras. As lesões no miocárdio eram menos pronunciadas e se caracterizavam por fina vacuolização das fibras musculares. Lesões degenerativas difusas foram observadas no parênquima hepático dos terneiros 1 e 2. Ao exame ultraestrutural os pequenos vacúolos observados pela microscopia óptica nas fibras miocárdicas revelaram ser mitocôndrias tumefeitas. Inclusões eletrodensas e ruptura das cristas foram também observadas nessas mitocôndrias. Nos músculos esqueléticos, vários graus de alterações degenerativas e necróticas foram observadas. O terneiro controle estava normal quando sacrificado 30 dias após o término do experimento. À necropsia e ao exame histológico de vários tecidos, incluindo músculo esquelético e miocárdio, não foram observadas lesões.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, Leguminosae Caesalpinoi-

deae, *Cassia occidentalis*, *Senna occidentalis*, patologia, doenças de bovinos, miopatia, miopatia tóxica.

INTRODUÇÃO

Cassia occidentalis L. (sin: *Senna occidentalis* (L.) Link.), com nome vulgar de fedegoso, é reconhecida, desde há muito, como planta tóxica para animais (Pammel 1911) e tem sido descrita como planta causadora de miopatia e cardiomiopatia degenerativas em várias espécies. Casos espontâneos da intoxicação têm sido descritos em bovinos (Henson et al. 1965, Pierce & O'Hara 1967), suínos (Colvin et al. 1986, Martins et al. 1986) e eqüinos (Brocq-Rousseau & Bruere 1925) e a reprodução experimental relatada em bovinos (Dollahite et al. 1964, Dollahite & Henson 1965, Henson & Dollahite 1966, Mercer et al. 1967, Read et al. 1968, O'Hara et al. 1969, O'Hara et al. 1970, Rogers et al. 1979), eqüinos (Moussu 1925, Martin et al. 1981), suínos (Colvin et al. 1986, Martins et al. 1986), ovinos e cabras (Dollahite et al. 1964, Dollahite & Henson 1965), aves (Simpson et al. 1971, Torres et al. 1971, Herbert et al. 1983, Graziano et al. 1983) e coelhos (Dollahite et al. 1964, Dollahite & Henson 1965, O'Hara & Pierce 1974a,b).

A planta é uma leguminosa anual encontrada em pastagens, ao longo de beira de estradas ou em lavouras de soja, milho e sorgo (Schmitz & Denton 1977, Colvin et al. 1986), em pastagens de várzeas ou em solos ricos bastante fertilizados (O'Hara et al. 1969). Folhas, caules, vagens e sementes são tóxicas (Dollahite et al. 1964, Henson & Dollahite 1966, Mercer et al. 1967), mas é nas sementes que a toxidez é maior (Dollahite et al. 1964, Henson & Dollahite 1966, Martins et al. 1981). Há indicações experimentais de que a planta possua efeito acumulativo (Mercer et al. 1967, O'Hara et al. 1969).

Em bovinos, a intoxicação ocorre geralmente no final do outono ou entrada do inverno, após as primeiras geadas (Henson et al. 1965, Pierce & O'Hara 1967), quando os pastos ficam pobres e a planta parece ficar mais palatável (Pierce & O'Hara 1967), ou também através da ingestão de cereais (O'Hara et al. 1969) ou de feno (Mercer et al. 1967) contaminados por sementes ou outras partes da planta. Bovinos de várias idades são afetados, mas a doença ocorre geralmente em animais de mais de 1 ano (Henson et al. 1965, Pierce & O'Hara 1967) sob forma de surtos afetando de 10 a 60% do rebanho ou, mais raramente, em forma de casos esporádicos (Pierce & O'Hara 1967, Schmitz & Denton 1977). Bovinos intoxicados desenvolvem uma doença afebril que se inicia por diarreia, 2 a 4 dias após o início da ingestão da planta (Mercer et al. 1967, Pierce & O'Hara 1967) e que progride, dentro de aproximadamente uma semana, para fraqueza muscular, ataxia e mioglobínúria (Mercer et al. 1967, Pierce & O'Hara 1967, O'Hara et al. 1969, Schmitz & Denton 1977). Existe marcada elevação nos níveis séricos de creatina fosfoquinase (CPK) e aspartato aminotransferase

(AT)⁶, o que ocorre nas últimas 24 a 36 horas de vida (Dollahite & Henson 1965, Mercer et al. 1966). Na fase final, o animal entra em decúbito esternal e, na maioria das vezes, permanece alerta, conservando parcialmente o apetite até poucas horas antes da morte (Pierce & O'Hara 1967). Uma vez em decúbito, a morte é inevitável (Pierce & O'Hara 1967). Em alguns casos, os sintomas podem aparecer vários dias após cessada a ingestão da planta (Mercer et al. 1967).

À necropsia, as principais lesões consistem de áreas pálidas nos músculos esqueléticos, preferencialmente nas grandes massas musculares dos membros e, em menor intensidade, no miocárdio. Essas áreas pálidas podem ocorrer em forma de listras claras ou manchas alternadas com áreas de coloração normal, com envolvimento de porção do músculo, de todo o músculo ou de vários músculos (Henson et al. 1965, Henson & Dollahite 1966, Mercer et al. 1967, Pierce & O'Hara 1967, O'Hara et al. 1969, Schmitz & Denton 1977, Rogers et al. 1979). No coração, as áreas pálidas são mais visíveis no miocárdio do ventrículo esquerdo (Mercer et al. 1967), imediatamente abaixo do endocárdio (O'Hara et al. 1969). Em 50% a 100% dos casos, a urina tem cor café e revela a presença de mioglobina (Dollahite & Henson 1965, Mercer et al. 1967, O'Hara et al. 1969, Rogers et al. 1979) e/ou hemoglobina (Mercer et al. 1967, Rogers et al. 1979), porém os rins não apresentam coloração escura.

patócitos (Dollahite & Henson 1965, Henson et al. 1965, Henson & Dollahite 1966, O'Hara et al. 1969, Rogers et al. 1979), renais, como degeneração do epitélio tubular (Henson & Dollahite 1966), pulmonares como edema (Henson & Dollahite 1966) e esplênicas como necrose perifolicular e infiltração de neutrófilos (Henson & Dollahite 1966), têm sido descritas em alguns casos.

O princípio ativo da planta responsável pela miodegeneração não foi ainda definitivamente caracterizado quimicamente (Herbert et al. 1983), mas substâncias catárticas responsáveis pelas perturbações gastrintestinais (Pierce & O'Hara 1967, Rogers et al. 1979), albumina tóxica (Moussu 1925, O'Hara et al. 1969) e N-metilmorfoline (Kim et al. 1971) têm sido mencionadas.

Relatamos aqui a ocorrência da intoxicação espontânea por ingestão acidental de sementes de *C. occidentalis*, em bovinos e descrevemos os dados da reprodução experimental da doença nessa espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Intoxicação espontânea

Observações nos casos espontâneos foram feitas em quatro estabelecimento rurais (A, B, C e D) nos municípios de Alegrete e Quaraí no Rio Grande do Sul (Quadro 1). As observações clínicas foram complementadas com três necropsias (uma em cada um dos estabelecimentos A, B e C) em dois bovinos que morreram naturalmente e em um que foi sacrificado *in extremis*. Amostras

Quadro 1. Histórico resumido dos casos de intoxicação espontânea por *Cassia occidentalis* em bovinos

Estabelecimento	Localização	Número e tipo de bovinos que recebiam o sorgo contaminado	Nº de bovinos que morreram
A	Alegrete, RS	4 vacas adultas em lactação	4 vacas
B	Alegrete, RS	1 vaca adulta 1 terneiro (8 meses)	1 vaca
Ca	Quaraí, RS	11 vacas de leite 22 vacas de invernar 5 novilhos 6 touros	8 vacas de leite 14 vacas de invernar 1 novilho 6 touros
Da	Alegrete, RS	6 vacas 6 terneiros	3 terneiros

^a Morreram também 8 e 6 equínos, respectivamente nos estabelecimentos C e D.

Em alguns casos ocorre leve edema pulmonar (Dollahite & Henson 1965).

Histologicamente, a lesão muscular caracteriza-se por degeneração, necrose e ruptura de fibras musculares esqueléticas (Dollahite & Henson 1965, Henson & Dollahite 1966) associadas, muitas vezes, a processos proliferativos e regenerativos (Henson & Dollahite 1966, Rogers et al. 1979). A lesão nas fibras do miocárdio é também degenerativa, mas, como regra, menos intensa (Pierce & O'Hara 1967, Read et al. 1968). Lesões hepáticas como necrose centrolobular, esteatose, necrose individual de células e inclusões acidofílicas no citoplasma dos he-

do sorgo que era usado na suplementação alimentar dos animais foram remetidas ao Centro de Diagnóstico Veterinário (CDV) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Após o diagnóstico de intoxicação por *Cassia occidentalis*, questionários foram feitos juntos aos proprietários dos quatro estabelecimentos a fim de se complementarem os dados clínicos e epizootiológicos dos surtos.

Identificação da planta. Algumas sementes de *C. occidentalis* foram separadas do sorgo contaminado e semeadas em agosto e setembro de 1987. Essas sementes germinaram e as plantas daí resultantes floresceram e frutificaram entre março e maio do ano seguinte e exemplares botânicos foram colhidos em abril e enviados ao Jardim Botânico do Rio de Janeiro para a identificação.

Reprodução experimental

Animais de experimentação. Cinco bovinos entre 7 meses e 1

⁶ Referida também na literatura como transaminase flutâmico oxaloacética sérica (TGOS ou SGOT).

ano de idade e com pesos entre 60 e 124 kg foram usados nos experimentos. Antes do início dos experimentos, os animais foram aclimatados em baias de alvenaria e alimentados com alfafa e ração comercial para bezerros por 10 dias. Nesse período foram observados clinicamente.

Métodos de administração das sementes. As sementes de *C. occidentalis* foram separadas manualmente do sorgo que era usado na suplementação alimentar dos animais das propriedades envolvidas; foram triturados em moedor de cereais, misturadas em água e administradas por via oral aos Bovinos 1 e 2 por meio de uma garrafa. Durante o experimento, esses dois animais tinham acesso à alfafa e água à vontade. Ao Bovino 1 (73kg) foi administrado um total de 10g/kg (1% do peso corporal) das sementes em duas vezes. Na primeira administração, o animal recebeu 8g/kg e 48 horas após outros 2g/kg. O Bovino 2 (60kg) recebeu 2g/kg (0,2% do peso corporal) das sementes por dia, durante 5 dias consecutivos, perfazendo um total de 10g/kg ou 1% do peso corporal. Essas administrações repetidas visaram a investigar o poder acumulativo da planta.

O sorgo, após separado das sementes de *C. occidentalis*, foi oferecido à vontade ao Bovino 5 (125kg) que recebia também água e alfafa à vontade.

Aos Bovinos 3 (81 kg) e 4 (115 kg), o sorgo foi oferecido de maneira idêntica ao que era feito nos quatro estabelecimentos com o problema, isto é, triturado juntamente com as sementes contaminantes de fedegoso. Estes animais (Bov 3 e 4) receberam água à vontade durante todo o experimento, mas a alfafa era dada em pouca quantidade para estimular a ingestão do sorgo.

Observações clínicas. Todos os animais foram examinados clinicamente em bases diárias. Especial atenção foi dada ao apetite, movimentos do rúmen, respiratórios e cardíacos, aspecto das fezes e da urina e ao funcionamento do aparelho muscular. Sangue e urina dos quatro animais que receberam a planta, foram colhidos para as determinações laboratoriais dos níveis de creatina fosfoquinase (CPK), aspartato aminotransferase (AT) no soro, e de mioglobina e hemoglobina na urina. As colheitas foram feitas em várias oportunidades a partir do segundo dia do início do experimento (Quadro 2). Três animais morreram naturalmente. O Bovino 4 foi sacrificado com injeção endovenosa de sulfato de magnésio quando mostrava sintomas evidentes da intoxicação e o Bovino 5 (controle) foi sacrificado por exangüinação, 30 dias após o término do experimento.

Exames laboratoriais. Para os exames bioquímicos do soro, foram colhidos 10ml de sangue por punção endovenosa da jugular. Após centrifugação, o soro foi congelado a - 20°C até a realização dos exames. Para as determinações de AT sérica, foi utilizado o Kit Labtest⁷ pelo método Reitman e Frankel com leituras num aparelho Spectronic 21⁸. Para as determinações da CPK sérica foi usado um Kit CK-NAC-Merck-Test⁹ pelo método CK-NAC ativado com leituras feitas num aparelho Spectronic 2100 Clinical Analyser⁸.

A pesquisa de mioglobina e hemoglobina na urina foi realizada pelo método descrito por Blondheim et al. (1958)¹⁰.

Necropsias e exames histológicos. Foram realizadas necropsias completas nos 5 bovinos intoxicados experimentalmente. Frag-

mentos de vários músculos esqueléticos, miocárdio, baço, linfonódos, fígado, abomaso, intestino, pulmão, rim e encéfalo foram colhidos em solução de formol a 10%, incluídos em parafina, cortados na espessura de 5 µm e corados pela Hematoxilina-Eosina (HE).

Microscopia eletrônica. Fragmentos do miocárdio e do músculo semitendinoso do Bovino 4 foram fixados em glutaraldeído (2%) e cacodilato de sódio (0,1M, pH 7,3), pós-fixados em tetróxido de ósmio (1%) e cacodilato de sódio (0,2M, pH 7,3) e incluídos em resina epóxi. Os cortes semifinos (1 µ) foram corados com azul de toluidina e serviram para escolher as porções a serem observadas em microscopia eletrônica. Os cortes ultrafinos foram contrastados com acetato de uranila a 7% e citrato de chumbo a 2% e observados em microscópio eletrônico Zeiss EM10.

RESULTADOS

Observações nos casos espontâneos

Nos quatro estabelecimentos estudados as mortes ocorreram no mês de julho. Os animais eram mantidos a campo e suplementados com sorgo, que era triturado pouco tempo antes de ser colocado nos cochos. Um total de 37 mortes em bovinos (Quadro 1) ocorreram nos quatro estabelecimentos. Os animais começaram a adoecer após 4 dias da introdução de uma nova partida de sorgo nos cochos. Anteriormente já vinham consumindo sorgo de outra procedência. O sorgo usado nos quatro estabelecimentos era oriundo de uma mesma Cooperativa. Alguns animais recusaram-se a ingerir o sorgo e não adoeceram. A doença iniciou cerca de uma semana após a introdução do sorgo na alimentação dos animais. Os bovinos afetados mostravam inicialmente diarreia que em alguns casos persistia até a morte do animal e em outros tendia a melhorar. Alguns dias após o início da diarreia, aparecia fraqueza muscular, incoordenação motora principalmente no trem posterior (andar cambaleante), e finalmente decúbito esternal. Os animais permaneciam por alguns dias em decúbito, mostrando-se, de maneira geral, alertas e com apetite. Não havia febre. Os dados quanto à evolução completa do quadro clínico não são precisos, mas naqueles animais observados com mais detalhes, a morte ocorreu entre 1 e 2 semanas após o aparecimento dos sintomas. Alguns animais adoeceram e se recuperaram sem entrarem em decúbito. Após a retirada do sorgo da alimentação, as mortes cessaram; exceção a isso foram alguns poucos bovinos do estabelecimento C (Quadro 1) que ainda apresentaram a doença e morreram cerca de duas semanas após a ração de sorgo ter sido retirada dos cochos. À necropsia notavam-se áreas claras na musculatura esquelética, principalmente na dos membros pelvianos. Em dois casos observou-se urina escura de cor café.

Durante a ocorrência do surto nos bovinos, morreram também 14 equinos adultos, oito no estabelecimento C e seis no estabelecimento D. Não foi possível observarmos pessoalmente o quadro clínico desses animais e necropsias não foram feitas. Históricos colhidos junto aos proprietários dos dois estabelecimentos indicam uma doença

⁷ Labtest, Sistemas Diagnósticos Ltda, Av. Isabel Bueno 948, Belo Horizonte, MG.

⁸ Bausch & Lomb. Milton Roy Company, Analytical Products Division.

⁹ Merck S.A. Indústrias Químicas, Estrada dos Bandeirantes 1099, Rio de Janeiro, RJ.

¹⁰ Blondheim S.H., Margoliash E. & Shafir E. 1958. A simple test for myohemoglobinuria (myoglobinuria). J. Am. Med. Assoc. 167: 453-454.

de curso agudo ou superagudo caracterizada por hiperexcitabilidade e sinais de dor abdominal.

Identificação da planta. O exame do sorgo que era usado na alimentação dos animais nos quatro estabelecimentos estudados, revelou uma contaminação por 10% de sementes que, após semeadas, produziram uma planta identificada como *Cassia occidentalis*¹¹ (Fig. 1 e 2).

Reprodução experimental

Observações clínicas. O Bovino 1 morreu cinco dias após o início da administração das sementes de *C. occidentalis*; o Bovino 2 morreu seis dias após o início da administração das sementes e dois dias após a última administração. O Bovino 3 morreu 12 dias após ter iniciado a ingestão da ração com sorgo contaminado, e o Bovino 4 foi sacrificado na fase terminal da doença, 15 dias após a introdução do sorgo na alimentação. Esse animal foi sacrificado para a coleta de material de necropsia fresco para a microscopia eletrônica. Apesar de a doença ter tido evolução diferente nos animais que receberam a semente pura da dos animais que receberam o sorgo com semente, os sinais clínicos observados em todos os casos foram fundamentalmente os mesmos; caracterizaram-se inicialmente por diarreia seguida de quadro de fraqueza muscular. Nos Bovinos 1 e 2, o primeiro sinal clínico observado foi o de perturbação gastrointestinal que se caracterizou pelo aparecimento de fezes amolecidas 24 (Bov. 1) a 48 horas (Bov. 2) após o início da administração da semente. Essa alteração evoluiu para forte diarreia esverdeada que permaneceu até a morte dos animais. Três (Bov. 1) e cinco (Bov. 2) dias após o início da administração das sementes apareceram os primeiros distúrbios musculares caracterizados por relutância em mover-se, leve apatia e tremores musculares. Nessa fase os animais não mostravam interesse em ingerir a ração e procuravam estar sempre deitados. Se forçados a levantarem-se, caminhavam pouco e logo voltavam a deitar-se assumindo decúbito esternal. Quando assim forçados a movimentarem-se, apresentavam tremores musculares. Ao caminhar arrastavam a ponta dos cascos (pinças) no chão e ao parar mantinham os membros posteriores para trás e afastados. Os tremores musculares eram mais evidentes na cabeça (masseteres), nuca e grandes massas musculares dos membros. Havia diminuição dos movimentos ruminais e, na fase terminal, aumento das frequências respiratória e cardíaca. Em um animal (Bov. 2) ocorreu bradicardia, um dia antes da morte. O Bovino 1 foi encontrado morto na manhã do 5º dia do experimento, tendo morrido pela madrugada e não sido possível a observação da fase terminal da doença. O Bovino 2 apresentou, cerca de 1 hora antes da morte (6º dia do experimento), tremores generalizados em decúbito lateral. Nessa fase o animal mugia constantemente, e as contrações musculares eram tão intensas que levavam à apnéia; o animal virava a cabeça violentamente em direção ao flanco e mostrava nistagmo.

Nos Bovinos 3 e 4 a diarreia iniciou-se por volta do 3º

dia após a introdução do sorgo contaminado por *C. occidentalis* na ração. A diarreia então, progressivamente, melhorou, até que, 5 a 6 dias após o início desse sintoma, as fezes tinham aspecto normal. Nos primeiros 2 a 3 dias do início do experimento, esses dois animais apresentaram relutância em ingerir a ração, mas, após esse período, alimentaram-se bem e mantiveram o apetite até a fase final da doença. Os sintomas de fraqueza muscular começaram por leve incoordenação ao redor do 4º (Bov. 3) e do 5º dias (Bov. 4) do início da ingestão do sorgo com a semente de *Cassia*. Os animais, ao serem movimentados, apresentavam leve "bambeira" e arrastavam as pontas dos cascos ao caminhar. Esses sintomas progressivamente se agravaram até o decúbito esternal. Durante as tentativas de fazê-los movimentar-se, mostravam tremores nos músculos dos membros posteriores e da paleta e procuravam evitar o exercício. O dorso apresentava-se arqueado e o abdômem retraído; os animais, quando em pé, procuravam apoiar a parte posterior do corpo contra a parede. Na serragem que forrava o chão das baias podiam-se observar sulcos, indicando que os animais arrastavam as pinças ao caminhar. Havia a mesma relutância em mover-se observada nos Bovinos 1 e 2. Os animais tendiam a ficar parados ou a deitar-se. O Bovino 3 entrou em decúbito esternal permanente um dia antes da morte. O Bovino 4 foi sacrificado quando entrou em decúbito esternal, 15 dias após o início do experimento.

O Bovino nº 5 não apresentou quaisquer sintomas durante todo o experimento. O animal ingeria bem o sorgo e era evidente que ganhou peso durante os 45 dias que foi mantido na ração, embora não tenha sido pesado ao ser sacrificado ao final do experimento.

Exames laboratoriais. Houve uma acentuada elevação dos níveis séricos de CPK nos quatro bovinos intoxicados experimentalmente (Quadro 2). Essa elevação só foi perceptível nas fases finais da doença. Nos Bovinos 2 e 3 houve também elevação dos níveis séricos de AT, embora de forma menos acentuada.

Em nenhuma oportunidade observou-se presença de hemoglobina ou mioglobina na urina.

Achados de necropsia. Foram semelhantes para os quatro animais que ingeriram a planta embora o quadro variasse em intensidade. As principais lesões macroscópicas envolviam a musculatura esquelética principalmente das grandes massas musculares dos membros posteriores e se caracterizavam pela perda da cor avermelhada normal do músculo, em determinadas áreas. Essas áreas tomavam então uma coloração pálida, quase branca ou branco-amarelada e eram de distribuição focal (Fig. 3) ou atingiam grande parte de um músculo; os músculos mais afetados foram as grandes massas musculares dos membros posteriores como o semitendinoso, glúteo interno e biceps femoral (Fig. 4 e Quadro 3). Outras vezes essas áreas de palidez apareciam de forma linear intercalada por fibras de coloração normal dando um aspecto rajado ao músculo. Essas lesões eram menos pronunciadas no Bovino 1, moderadas nos Bovinos 2 e 3 e mais acentuadas no Bovi-

¹¹ Identificação botânica realizada pela Dra. Marli Pires Morim de Lima, Bióloga do Jardim Botânico, Rio de Janeiro, RJ.

no 4. O miocárdio mostrava áreas de coloração marrom-amarelada ou pálida que podiam ser percebidas apenas

ao exame mais cuidadoso. Essas áreas apareciam principalmente nos ventrículos e eram mais acentuadas no Bo-

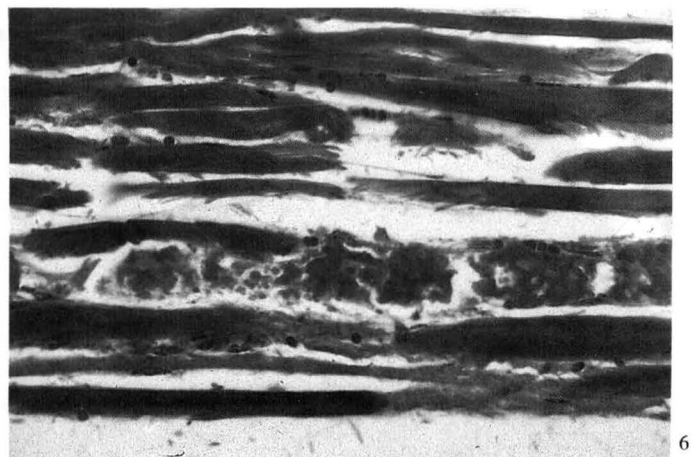
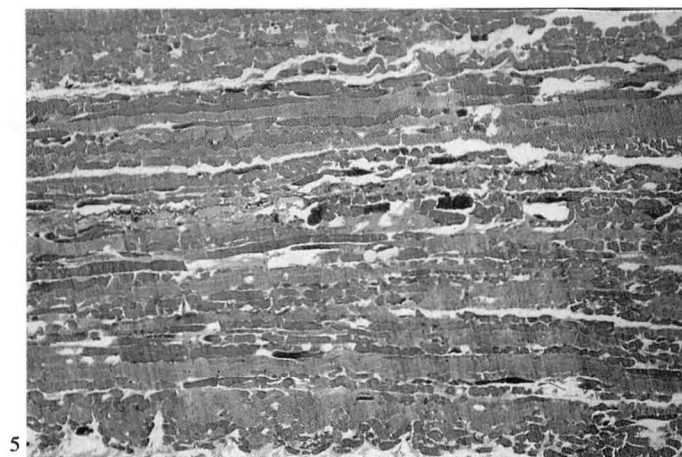


Fig. 1. *Cassia occidentalis* em floração. Observe a posição das vagens arqueadas para cima características da espécie. As folhas são verde-escuras e as flores de cor amarelo-ouro. (Fotografia tomada em março)

Fig. 3. Área focal de coloração branco-amarelada no músculo bíceps femoral, correspondendo a área de degeneração muscular, na intoxicação experimental por *Cassia occidentalis* (Bov. 2).

Fig. 5. Várias fibras de músculo esquelético mostram-se tortuosas, hialinizadas e fragmentadas, encontrando-se o sarcoplasma rompido e formando agregações eosinofílicas. Intoxicação experimental por *C. occidentalis* (Bov. 4). HE, obj. 6,3.

Fig. 2. Vista mais aproximada do espécime da Fig. 1. As vagens são verdes quando imaturas e possuem barras transversais; quando maduras tornam-se marrom.

Fig. 4. Extensas áreas de coloração branco-amarelada no músculo semitendinoso; outra área focal arredondada de mesma coloração é vista no músculo bíceps femoral (Bov. 2).

Fig. 6. Fibra muscular estriada mostrando fragmentação do sarcoplasma com formação de agregações eosinofílicas (degeneração flocular), na intoxicação experimental por *C. occidentalis* (Bov. 3). HE, obj. 16.

Quadro 2. Níveis séricos de creatina fosfoquinase (CPK) e aspartato aminotransferase (AT) nos bovinos intoxicados experimentalmente por *Cassia occidentalis*^a

Dias da colheita (dia após início do experimento)	Animal n ^o							
	1		2		3		4	
	CPK ^b	AT ^b	CPK	AT	CPK	AT	CPK	AT
2	20,6	20,0	40,0	47,0	NR ^c	NR	NR	NR
3	20,6	18,0	NR	NR	NR	NR	NR	NR
4	294,3	27,0	NR	NR	19,2	12,0	32,9	22,0
5	14.787,6 ^d	33,0	14,0	82,0	NR	NR	NR	NR
6	-	-	159,0 ^d	170,0	NR	NR	NR	NR
11	-	-	-	-	1.213,26 ^d	75,0	360,4	27,0
15	-	-	-	-	-	-	54.047,0 ^d	420,0

^a Amostras de urina foram colhidas nas mesmas datas das amostras de sangue, mas em nenhuma oportunidade houve reação positiva para a presença quer de mioglobina, quer de hemoglobina.

^b Em unidades/litro.

^c NR = não realizado.

^d Dia da morte.

vino 3. Nos Bovinos 2 e 3 havia sinais de dilatação do ventrículo direito. Hemorragias petequiais e sufusões sub-epicárdicas estavam presentes em todos os animais e hemorragias musculares associadas às lesões dos músculos esqueléticos estavam presentes no Bovino 3. Nos Bovinos 1 e 3 havia ainda hidropericárdio moderado. Nos Bovinos 1 e 2 o fígado estava aumentado de volume, com bordos arredondados e de cor marrom-claro apresentando ainda manchas escuras na superfície natural. Ao corte apresentava moderado aspecto de noz-moscada. O intestino delgado de todos os animais, mas com mais intensidade nos Bovinos 1 e 2, apresentava avermelhamento da mucosa e substância de aspecto mucoso nos lumes. A urina estava clara em todos os casos, bem como não havia alteração macroscópica nos rins de nenhum dos animais. O Bovino 5 não apresentava lesões à necropsia.

Exame histológico. Nos quatro bovinos que receberam a semente predominou um quadro histopatológico de miopatia degenerativa. Vários graus de lesões degenerativas eram observados nos músculos estriados. As fibras com lesões menos marcantes mostravam-se sinuosas e tumefeitas. Em outras observava-se degeneração discóide, caracterizada pela separação dos sarcômeros que se colocavam ao longo da fibra, como pilhas de moedas. Outros segmentos de fibras mostravam hipercontração segmentar, hialinose e degeneração flocular, caracterizadas por agregações acidofílicas correspondentes a fragmentos de fibras degeneradas (Figs. 5 e 6). Essas alterações degene-

rativas atingiam as fibras de maneira focal, envolvendo várias fibras ao mesmo tempo ou pequenos grupos de fibras que se alternavam com fibras de aspecto normal. Nos Bovinos 2 e 4 percebiam-se ainda infiltrados de polimorfonucleares neutrófilos e linfócitos entre as fibras; essa infiltração celular era leve no Bovino 2 e moderada no Bovino 4. No Bovino 3, percebiam-se, além das lesões já descritas, áreas de hemorragia difusa entre as fibras dos músculos semitendinoso e glúteo interno. As lesões eram, de maneira geral, mais acentuadas nas massas musculares dos membros posteriores (Quadro 3). Lesões hepáticas acentuadas foram observadas nos Bovinos 1 e 2 e consistiam de congestão centrolobular e vacuolização difusa dos hepatócitos. No citoplasma dos hepatócitos havia formação de esférulas hialinas. Vários hepatócitos mostravam necrose individual. Essas células tinham o núcleo picnótico e citoplasma granular e acidofílico. O fígado do Bovino 3 mostrava apenas congestão centrolobular moderada com dilatação dos sinusóides e, no Bovino 4, não havia alterações hepáticas.

As lesões observadas no miocárdio eram de natureza semelhante nos quatro bovinos, porém de intensidade moderada no Bovino 3 e leves nos outros três. A lesão cardíaca caracterizava-se histologicamente por formação de minúsculos vacúolos entre as miofibrilas. Esses vacúolos, por vezes, eram difíceis de serem individualizados; a aparência geral era de afastamento das miofibrilas entre si. Por vezes um vacúolo maior era visto ao redor do núcleo.

Quadro 3. Grau de intensidade das lesões observadas nos vários músculos dos bovinos intoxicados experimentalmente com *Cassia occidentalis*

Bovino n ^o	Músculo(s)								
	Semitendinoso	Glúteo interno	Bíceps femoral	Diafragma	Escápula (supraespinhoso)	Psoas	Intercostais	Peitoral superficial	Língua
1	++ ^a	+	+	(+)	+	(+)	-	(+)	-
2	++	+++	++	+	++	+	+	+	NE ^b
3	++	++	+++	(+)	+	+	-	+	NE
4	+++	+++	+++	+	++	++	(+)	+	NE

^a +++ Lesão acentuada, ++ moderada, + leve, (+) discreta, - ausência de lesão;

^b NE = não examinado.

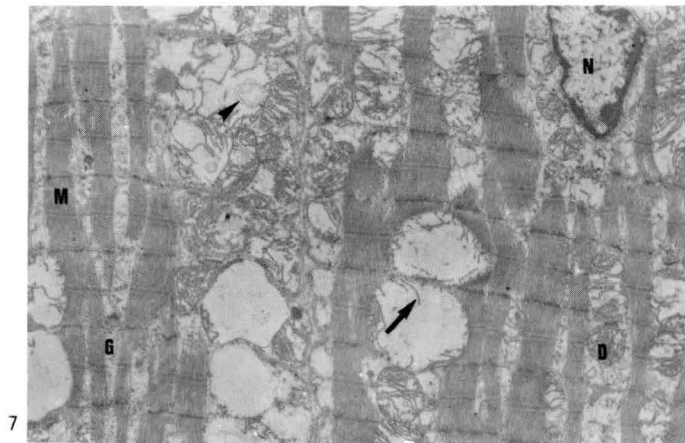


Fig. 7. Célula muscular cardíaca apresentando mitocôndrias tumefeitas e dilatadas comprimindo feixes de miofibrilas (M). A maioria destas mitocôndrias apresentam alterações na membrana interna com rompimento de cristas (seta), algumas com densificações (D) ou figuras pseudomiélnicas (cabeça de seta). Nota-se uma leve diminuição do glicogênio (G) citoplasmático e núcleo (N) sem alterações (Bov. 4). Microscopia eletrônica (ME), x 8.000.

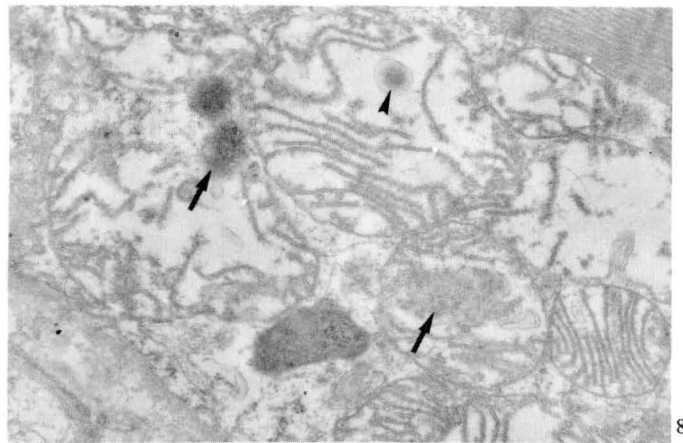
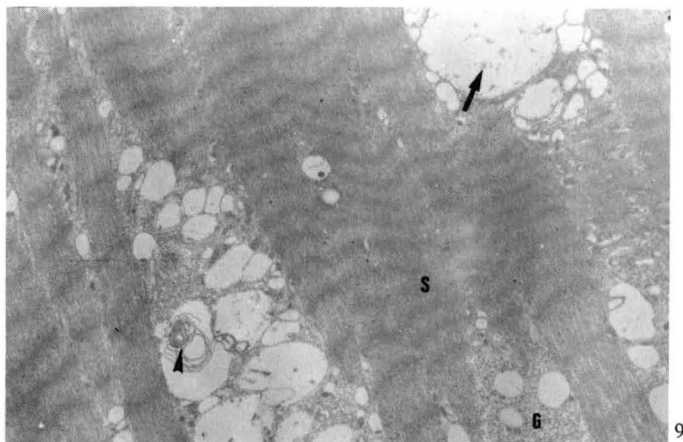


Fig. 8. Célula muscular cardíaca mostrando em detalhes as densificações (setas) mitocôndriais e figuras pseudo-miélnicas (cabeça de seta) ME, x 40.000.

Fig. 9. Célula muscular esquelética apresentando mitocôndrias acentuadamente tumefeitas com material fluoculento (seta) ou figuras pseudo-miélnicas (cabeça de seta). Notam-se bandas de sarcômeros (S) contraídos e glicogênio (G) no citoplasma (Bov. 4). ME, x 12.000.



No pulmão dos Bovinos 3 e 4 observaram-se discreta congestão e edema dos septos interalveolares.

No baço do Bovino 2 havia diminuição dos linfócitos ao redor da arteríola centrofolicular. Não havia, no entanto, necrose ativa nem infiltrado inflamatório. Edema e hiperplasia linfóide eram observados nos linfonódos mesentéricos de todos os animais.

Microscopia eletrônica. As lesões ultraestruturais observadas nas células musculares estriadas cardíacas e esqueléticas foram marcantes ao nível mitocondrial. Estas organelas apresentaram-se edemaciadas e dilatadas causando afastamento dos feixes de miofibrilas. Rompimento da membrana interna com fragmentação de cristas mitocondriais foram as alterações predominantes. Em algumas mitocôndrias das células musculares cardíacas foram observadas inclusões eletrodensas e formações pseudomiélnicas (Figs. 7 e 8). Associados às lesões mitocondriais podiam ser notados discreto edema intracelular e leve diminuição do glicogênio (Fig. 7). As fibras estriadas esqueléticas apresentavam vários graus de degeneração e necrose. As alterações mais precoces atingiam as mitocôndrias e caracterizavam-se por tumefação, formações pseudomiélnicas e floculações da matriz mitocondrial (Fig. 9). Em vários locais podia-se perceber hipercontração segmentar (Fig. 9).

DISCUSSÃO

Evidências claras indicam que a doença que acometeu os

bovinos dos quatro estabelecimentos estudados, estava associada à ingestão do sorgo contaminado por sementes de *Cassia occidentalis*. Os sinais clínicos e os dados de necropsia observados nos animais do surto espontâneo são aqueles descritos para intoxicação espontânea (Henson et al. 1965, Pierce & O'Hara 1967) e experimental (Dollahite et al. 1964, Dollahite & Henson 1965, Henson & Dollahite 1966, Mercer et al. 1967, O'Hara et al. 1969, Rogers et al. 1979), por *C. occidentalis* em bovinos. Além disso, a doença surgiu logo após a introdução do sorgo contaminado na alimentação dos animais e desapareceu após a sua retirada. A ocorrência em um estabelecimento (C) de algumas mortes em bovinos, mesmo após 15 dias da retirada da ração, podia ser esperado, pois situação semelhante é descrita nos casos espontâneos da intoxicação (Mercer et al. 1967). O nível de contaminação do sorgo por sementes de *C. occidentalis* era alto (10%). Apesar do nível de ingestão diário da ração pelos bovinos não ter sido medido, se considerarmos que um bovino de 200 kg pode ingerir cerca de 2 kg de ração do concentrado por dia, estaria ingerindo 200g ou 0,1% do seu peso corporal da semente por dia. Experimentalmente, esse nível de ingestão pode causar a morte de bovinos em 9 dias após o início da administração (O'Hara et al. 1969). É de interesse notar que o sorgo (e conseqüentemente a semente de *C. occidentalis* contaminante), era retirado do estoque e triturado antes de ser oferecido aos

animais. Isso aumenta a possibilidade de intoxicação por duas razões. A semente íntegra é de baixa absorção, pois possui uma casca espessa bastante indigerível. Em administrações que realizamos em um equino com a semente não triturada (Dados não publicados), a maior parte desta era expelida intacta. Em segundo lugar, como o sorgo e as sementes de *C. occidentalis* eram estocados íntegros e somente triturados pouco tempo antes de serem dados aos animais, havia maior possibilidade de conservarem sua toxidez. Tem sido observado que as sementes de *C. occidentalis* perdem consideravelmente sua toxidez se conservadas após a trituração, mesmo que em recipientes bem fechados (O'Hara & Pierce 1974a). Por outro lado, experimentos realizados com equinos demonstram que, quando conservada íntegra, a semente conserva sua toxidez inalterada pelo menos por 1 ano após ter sido colhida (Irigoyen et al. 1991).

O fato de que muitos animais que tinham acesso ao sorgo contaminado, não apresentaram sintomas ou apresentaram sintomas e se recuperaram, pode ser explicado pela provável baixa ingestão do sorgo contaminado, devido à má palatabilidade ou à dominância social de animais mais agressivos sobre os outros; esses últimos teriam acesso reduzido ao concentrado. Mesmo assim, se compararmos o número de bovinos (62) que recebiam o sorgo nos quatro estabelecimentos com o número de mortes ocorridas (37) têm-se uma incidência alta (59,7%). A morbidade e mortalidade exatas não foi possível precisar, pois os históricos de animais que adoceram e se recuperaram não eram precisos. Em surtos espontâneos da intoxicação por *C. occidentalis* em bovinos, quando os animais ingerem várias partes da planta no pastoreio, a doença pode ocorrer afetando grande número de animais ou afetar apenas alguns animais no rebanho (Schmitz & Denton 1977). Geralmente os surtos afetam 10 a 60% dos animais do rebanho (Pierce & O'Hara 1969). A incidência no surto espontâneo aqui relatado é semelhante a esses índices mais altos de mortalidade e deve ser atribuída ao fato de que animais deste estudo recebiam a semente na ração, ao passo que nos outros surtos mencionados na literatura, os animais ingeriam a *Cassia* em pastoreio, ingerindo várias partes da planta. Sabe-se que a semente é a parte mais tóxica (Dollahite et al. 1964, Henson & Dollahite 1966, Martin et al. 1981).

A evidência adicional que implica *C. occidentalis* como causadora da morte dos animais nos surtos espontâneos foi a reprodução do quadro clínico-patológico típico da doença usando-se a ração de sorgo oriunda das propriedades com o problema. Além disso, somente as sementes quando separadas do sorgo e administradas aos Bovinos 1 e 2 também reproduziram o quadro típico da intoxicação. O fato de que o Bovino 5 subsistiu e ganhou peso por 45 dias com a alimentação constituída pelo sorgo do qual haviam sido retiradas as sementes de *C. occidentalis* indica que não havia outros elementos tóxicos associados à ração.

No surto espontâneo, os bovinos estavam recebendo

sorgo que era distribuído por uma cooperativa que mantinha um estoque de 33.000 sacos de sorgo contaminado. Esse aspecto deve ser salientado, pois esse cereal está sendo usado com frequência crescente para alimentação de animais (principalmente suínos) devido ao alto preço de outros cereais, como o milho. É fácil imaginar-se os graves prejuízos econômicos que um grande estoque assim contaminado pode causar, se o diagnóstico não for feito a tempo. Com referência ao sorgo, o risco de intoxicação é maior porque a semelhança tanto em tamanho como em densidade entre os grãos de sorgo e de *C. occidentalis*, dificulta a percepção da contaminação e também a classificação das sementes (Colvin et al. 1986). Temos notado que são comuns em várias regiões do Rio Grande do Sul, lavouras de sorgo e milho altamente infestadas por *C. occidentalis*. Como à época da colheita do sorgo, o fedegoço já apresenta vagens com sementes, a contaminação, quando a colheita é feita mecanicamente, é inevitável.

O quadro clínico-patológico observado nos animais intoxicados experimentalmente foi fundamentalmente o mesmo observado nos surtos espontâneos e o mesmo descrito em outros experimentos (Dollahite et al. 1964, Dollahite & Henson 1965, Henson & Dollahite 1966, Mercer et al. 1967, O'Hara et al. 1969, Rogers et al. 1979). A doença experimental teve um curso que variou de 4 a 12 dias e iniciou com diarreia seguida de tremores musculares, incoordenação, relutância em mover-se, decúbito e morte. Havia aumento das frequências respiratória e cardíaca e elevação nos níveis séricos de CPK. A elevação dessa enzima no soro é um bom indicativo de lesão muscular (Hulland 1985), embora não indique a etiologia. As fibras musculares cardíacas e esqueléticas são ricas nessa enzima, de maneira que processos degenerativos e necróticos que aumentam a permeabilidade da membrana celular promovem a sua liberação pelas células e conseqüente liberação para o soro. Porém, índices elevados de CPK só foram observados nos últimos dias de vida dos animais. Essa situação é semelhante à observada por outros autores (O'Hara et al. 1969, Rogers et al. 1979). Embora esse dado laboratorial possa ser de importância para o diagnóstico de casos espontâneos, níveis normais de CPK nas fases iniciais da intoxicação devem ser tomados com cuidado. Elevação nos níveis séricos também de AT foram observados em três dos bovinos experimentalmente intoxicados. Embora essa enzima ocorra em células hepáticas, no presente estudo é difícil relacionar a sua elevação a lesões parenquimatosas do fígado. No caso do Bovino 4, não se observaram lesões hepáticas e, mesmo assim, justamente nesse animal ocorreu a maior elevação sérica de AT; a mesma enzima não esteve elevada no Bovino 1 que mostrou alterações hepáticas acentuadas. Elevações nos níveis séricos de AT podem ser atribuídas também à lesão muscular (Hulland 1985), uma vez que a fibra muscular possui considerável quantidade dessa enzima.

Nos nossos casos experimentais não foi observada mioglobínúria ou hemoglobínúria, achado frequentemente associado à intoxicação por *C. occidentalis* em bovinos

(Henson & Dollahite 1966, Henson et al. 1965, Mercer et al. 1967, Pierce & O'Hara 1967, O'Hara et al. 1969, Schmitz & Denton 1977, Rogers et al. 1979). A mioglobinúria é consequência da destruição da fibra muscular, porém a concentração de mioglobina na urina nem sempre é proporcional à lesão muscular (Schmitz & Denton 1977); à medida que a fibra muscular é lesada, libera mioglobina que entra na circulação sanguínea e, como o limiar renal para a mioglobina é baixo, esta acaba sendo eliminada na urina (Mercer et al. 1967). A presença de miogloninúria não é, no entanto, um achado sempre presente em casos de intoxicação por *C. occidentalis* (Schmitz & Denton 1977) e a idade é um fator que influi no seu aparecimento, ocorrendo mais concentradamente em animais mais velhos (Mercer et al. 1967); os animais do nosso experimento eram terneiros jovens. A ocorrência de hemoglobínúria observada em casos de intoxicação por *C. occidentalis* em bovinos (Mercer et al. 1967, Rogers et al. 1979) é explicada como consequência de hemorragias no parênquima renal (Mercer et al. 1967). Em nossos casos não foi observado esse tipo de lesão renal.

As principais lesões encontradas nos 4 animais que receberam a planta foram áreas de cor mais clara na musculatura esquelética, principalmente na dos membros posteriores. Essas áreas eram focais, atingiam grandes áreas do músculo ou apresentavam-se como feixes de fibras mais claras alternadas com fibras de aspecto normal. Histopatologicamente essas áreas correspondiam a vários graus de degeneração e necrose da fibra muscular. No coração as lesões eram quase imperceptíveis macroscopicamente; histopatologicamente apareciam como uma fina vacuolização das fibras do miocárdio e tinham uma distribuição difusa. Nos cortes de microscopia eletrônica a lesão cardíaca tem uma semelhança estreita com o que é descrito como lesão cardíaca na intoxicação por *C. occidentalis* (Read et al. 1968). As lesões ultraestruturais demonstram alterações associadas às mitocôndrias do músculo cardíaco precedendo as alterações das miofibrilas, pois, em vários cortes de miocárdio, as lesões de tumefação mitocondrial aparecem na ausência de outras alterações de degeneração miofibrilar. Tem sido sugerido que um fator tóxico presente na planta possa agir especificamente na mitocôndria do músculo estriado (Read et al. 1968, O'Hara & Pierce 1974a). Em intoxicações experimentais por sementes de *C. occidentalis* realizadas em coelhos (O'Hara & Pierce 1974a) verificou-se que as lesões microscópicas no miocárdio são idênticas às descritas na intoxicação experimental em bovinos pela mesma planta (Read et al. 1968). Estudos bioquímicos realizados no miocárdio de coelhos assim intoxicados (O'Hara & Pierce 1974b) demonstram que a toxina de *C. occidentalis* induz um desacoplamento da fosforilação oxidativa da mitocôndria da fibra cardíaca. Como essa reação é usada para obtenção de energia (ATP) por essa organela, a mitocôndria, privada de energia, tem dificuldades de manter o funcionamento da bomba de sódio e potássio, acumula água e incha. Essa tumefação mitocondrial progride para

ruptura da mitocôndria e conseqüente degeneração da fibra miocárdica. Seqüência de eventos semelhantes é prevista para as fibras esqueléticas. Como a lesão miocárdica em coelhos é idêntica à observada em bovinos intoxicados por *C. occidentalis*, neste e em outros experimentos (Read et al. 1968), é de se supor que nos bovinos ocorram as mesmas alterações bioquímicas. A diminuição de glicogênio observada ultraestruturalmente no miocárdio do Bovino 4 deste estudo, pode ser devida a um aumento da atividade glicolítica da fibra cardíaca (O'Hara & Pierce 1974b). É de se supor que uma lesão cardíaca como a que ocorreu nos bovinos deste estudo, possa ser responsável pela morte dos animais por insuficiência cardíaca aguda. Tal hipótese já foi formulada em outros estudos experimentais da intoxicação em bovinos (O'Hara et al. 1969). Fatores outros como a lesão de músculos auxiliares na respiração, como diafragma e intercostais, e, pelo menos em alguns casos, a lesão hepática, devem ser considerados também como contribuintes para a *causa mortis*.

Adicionalmente ao quadro de miopatia, dois animais mostraram quadro de hepatopatia (Bov. 1 e 2). O possível efeito hepatotóxico de *C. occidentalis* tem sido ressaltado (Henson & Dollahite 1966) e lesões degenerativas do fígado têm sido descritas por vários autores, associadas à intoxicação em bovinos (Dollahite & Henson 1965, Henson et al. 1965, O'Hara et al. 1969, Rogers et al. 1979). Outras espécies de *Cassia* também tem sido descritas como produtoras de lesões hepáticas em bovinos e caprinos (El Sayed et al. 1983, Rowe et al. 1987). A ocorrência da lesão hepática é atribuída por alguns à insuficiência cardíaca congestiva devido à lesão produzida no miocárdio pela planta (O'Hara et al. 1969). Embora uma insuficiência circulatória possa ser responsável pelo tipo de congestão e necrose centrolobulares discretas observadas no Bovino 3, acreditamos que nos Bovinos 1 e 2 que receberam quantidades grandes (10g/kg) da planta e que apresentavam uma lesão degenerativa hepática difusa e grave, tenha ocorrido um efeito hepatotóxico direto pela planta. Rowe et al. (1987) descreveram lesões hepáticas semelhantes em terneiros e cabras intoxicados experimentalmente por *Cassia roemeriana*. Nos experimentos desses autores o quadro de hepatopatia aparecia quando os animais recebiam altas doses; em doses mais reduzidas e em administrações mais prolongadas predominava o quadro de miopatia. Em eqüinos, demonstrou-se que a planta produz lesões degenerativas graves no fígado, antes que ocorram lesões musculares observáveis macroscopicamente (Irigoyen et al. 1991). Acreditamos portanto que a planta possui mesmo um efeito hepatotóxico que está relacionado com a dose, ocorrendo quando quantidades altas da planta são ingeridas. Na situação natural da intoxicação espontânea em bovinos, é possível que esse quadro hepatotóxico não ocorra freqüentemente, pois em condições naturais os animais tendem a ingerir quantidades menores por períodos prolongados.

O efeito acumulativo da planta tem sido mencionado

Quadro 4. Pontos a considerar no diagnóstico diferencial em bovinos entre a miopatia tóxica causada pela ingestão de *Cassia occidentalis* e a miopatia nutricional (Doença dos músculos brancos)

	Miopatia tóxica	Miopatia nutricional	Referências
Etiologia	A presença da planta e/ou de sementes deve ser confirmada na pastagem e/ou ração dos animais.	Deficiência de Vit. E e selênio. Níveis baixos da enzima glutathione peroxidase e de selênio nos tecidos podem dar indicações para o diagnóstico.	Schmitz e Denton (1977), Hulland (1985)
Faixa etária mais atingida	Várias idades. Geralmente animais adultos	Geralmente terneiros	Henson et al. (1965), Schmitz & Denton (1977)
Lesões	As lesões degenerativas no miocárdio são menos intensas, geralmente caracterizadas por vacuolização (tumefação de mitocôndrias) de fibras	Lesões cardíacas acentuadas com necrose coagulativa e calcificação de fibras	Read et al. (1968), Henson et al. (1965)
	Mineralização das fibras cardíacas ou esqueléticas é rara ou ausente	A calcificação das fibras cardíacas e esqueléticas é intensa e freqüente	Pierce & O'Hara (1967), Schmitz & Denton (1977)
Tratamento	Não responde ao tratamento. Inclusive o tratamento com Vitamina E e selênio pode agravar o quadro	Casos menos avançados respondem ao tratamento com Vit. E e selênio	O'Hara et al. (1970), Schmitz & Denton (1977), Barros et al. (1988)

por alguns autores. Nos Bovinos 1 e 2 que receberam administrações totais iguais, porém repartidas em cinco administrações no caso do Bovino 2, o curso clínico e os achados de necropsia foram semelhantes, o que reforça essa teoria. Além disso em experimentos com equinos, administrações de 2g/kg provocaram a morte com o mesmo quadro, quer sejam dadas em uma única dose ou em doses subdivididas em oito administrações (Irigoyen et al. 1991).

Num surto de ocorrência espontânea de intoxicação por *C. occidentalis*, a miopatia nutricional dos bovinos deve ser considerada no diagnóstico diferencial, já que essa última doença foi reconhecida em nosso Estado (Barros et al. 1988). Os pontos principais a serem considerados nesse diagnóstico diferencial estão resumidos no Quadro 4.

Catorze equinos também morreram em dois estabelecimentos estudados. Embora o quadro clínico nesses equinos não tenha sido por nós observado, o fato de saber-se que estes animais estavam recebendo a mesma ração que os bovinos, e que o equino é bem mais sensível que o bovino aos efeitos tóxicos de *C. occidentalis* (Martin et al. 1981, Irigoyen et al. 1991) leva a supor que essas mortes foram devidas também à intoxicação por esta planta.

REFERÊNCIAS

- Barros C.S.L., Barros S.S., Santos M.N. & Metzendorf L.L. 1988. Miopatia nutricional em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 8(3/4):51-55.
- Brocq-Rousseau et Bruere P. 1925. Accidents mortels sur des cheveaux a la graine de *Cassia occidentalis* L. *Compt. Rend. Soc. Biol.* 92:555-557.
- Colvin B.M., Harrinson L.R., Sangster L.T. & Gosser H.S. 1986. *Cassia occidentalis* toxicosis in growing pigs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 189:423-426.
- Dollahite J.W. & Henson J.B. 1965. Toxic plants as the etiologic agent of myopathies in animals. *Am. J. Vet. Res.* 26:749-752.
- Dollahite J.W., Henson J.B. & Householder G.T. 1964. Coffee Senna (*Cassia occidentalis*) poisoning in animals. *Tex. Agric. Exp. Stn, Progr. Rep.* 2318, Texas A & M University. 2p.
- El Sayed N.Y., Abdelbari E.M., Mahmoud O.M. & Adam E.I. 1983. The toxicity of *Cassia senna* to nubian goats. *Vet. Quarterly* 5:80-85.
- Graziano M.J., Flory W., Seger C.L. & Herbert C.D. 1983. Effects of a *Cassia occidentalis* extract in the domestic chicken (*Gallus domesticus*). *Am. J. Vet. Res.* 44:1238-1244.
- Henson J.B., Dollahite J.W., Bridges C.H. & Rao R.R. 1965. Myodegeneration in cattle grazing *Cassia* species. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 147:142-145.
- Henson J.B. & Dollahite J.W. 1966. Toxic myodegeneration in calves produced by experimental *Cassia occidentalis* intoxication. *Am. J. Vet. Res.* 27:947-949.
- Herbert C.D., Flory W., Seger C. & Blanchard R.E. 1983. Preliminary isolation of a myodegenerative toxic principle from *Cassia occidentalis*. *Am. J. Vet. Res.* 44:1370-1374.
- Hulland T.J. 1985. Muscle and tendons, p. 139-199. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (ed.) *Pathology of Domestic Animals*. 3rd. ed. Academic Press, Orlando, vol. 1. chap. 2.
- Irigoyen L.F., Graça D.L. & Barros C.S.L. 1991. Intoxicação experimental por *Cassia occidentalis* (Leg. Caes.) em equinos. *Pesq. Vet. Bras.* 11(3/4). (Em publicação)
- Kim H.L., Camp B.J. & Grigsby R.D. 1971. Isolation of a methylmorpholine from the seeds of *Cassia occidentalis* L. (Coffee Senna). *J. Agr. Food Chem.* 19:198-199.
- Martin B.W., Terry M.K., Bridges C.H. & Bailey Jr. E.M. 1981. Toxicity of *Cassia occidentalis* in the horse. *Vet. Hum. Toxicol.* 23:416-417.
- Martins E., Martins V.M.V., Riet-Correa F., Soncini R.A. & Paraboni S.V. 1986. Intoxicação por *Cassia occidentalis* (Leguminosae) em suínos. *Pesq. Vet. Bras.* 6:35-38.
- Mercer H.D., Neal F.C., Himes J.A. & Edds G.T. 1967. *Cassia occidentalis* toxicosis in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 151:735-741.
- Moussu R. 1925. L'intoxication par les graines de *Cassia occidentalis* L. est due a une tox-albumine. *Compt. Rend. Soc. Biol.* 92:862-863.
- O'Hara P.J., Pierce K.R. & Read W.K. 1969. Degenerative myopathy associated with the ingestion of *Cassia occidentalis* L.: clinical and pathological features of the experimentally induced disease. *Am. J. Vet. Res.* 30:2173-2180.
- O'Hara P.J., Pierce K.R. & Read W.K. 1970. Effects of Vitamin E and Selenium on *Cassia occidentalis* intoxication in cattle. *Am. J. Vet. Res.* 31:2151-2156.

- O'Hara P.J. & Pierce K.R. 1974a. A toxic myopathy caused by *Cassia occidentalis*. I. Morphologic studies in poisoned rabbits. *Vet. Pathol.* 11:97-109.
- O'Hara P.J. & Pierce K.R. 1974b. A toxic cardiomyopathy caused by *Cassia occidentalis*. II. Biochemical studies in poisoned rabbits. *Vet. Pathol.* 11:110-124.
- Pammel L.H. 1911. A Manual of Poisonous Plants. 1st ed. Torch Press, Cedar Rapids, p. 829. (Citado por O' Hara & Pierce 1974a)
- Pierce K.R. & O'Hara P.J. 1967. Toxic myopathy in Texas cattle. *Southwestern Vet.* 20:179-183.
- Read W.K., Pierce K.R. & O'Hara P.J. 1968. Ultrastructural lesions of an acute toxic cardiomyopathy of cattle. *Lab. Invest.* 18:227-231.
- Rogers R.J., Gibson J. & Reichman K.G. 1979. The toxicity of *Cassia occidentalis* for cattle. *Aust. Vet. J.* 55:408-412.
- Rowe L.D., Corrier D.E., Reagor J.C. & Jones L.P. 1987. Experimentally induced *Cassia roemeriana* poisoning in cattle and goats. *Am. J. Vet. Res.* 48:992-997.
- Schmitz D.G. & Denton J.H. 1977. Senna bean toxicity in cattle. *Southwestern Vet.* 30:165-170.
- Simpson C.F., Damron B.L. & Harms R.H. 1971. Toxic myopathy of chicks fed *Cassia occidentalis* seeds. *Avian Dis.* 15:284-290.
- Torres W.L.N., Nakano M., Nobre D. & Momose N. 1971. Intoxicação em aves ocasionada por *Cassia occidentalis* L. *Biológico, S. Paulo,* 37:204-208.

AVALIAÇÃO DO EFEITO IMUNOPROTETOR DE DIFERENTES VACINAS CONTRA *Corynebacterium pseudotuberculosis* EM CAPRINOS¹

DENISE C. CARVALHO², ROBERT SCHAEER², CLAUDIA BRODSKYN²
IVANA L. O. NASCIMENTO², SONGELI FREIRE² e ROBERTO MEYER²

ABSTRACT.- Carvalho D. C., Schaer R., Brodskyn C., Nascimento I.L.O., Freire S. & Meyer R. 1990. [Levels of immunoprotection induced in goats against *Corynebacterium pseudotuberculosis* using several types of vaccines.] Avaliação do efeito imunoprotetor de diferentes vacinas contra *Corynebacterium pseudotuberculosis* em caprinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 10(3/4):59-62. Lab. Imunologia e Biologia Molecular, Inst. Ciênc. Saúde, UFBA, Av. Reitor Miguel Calmon s/n, Campus Universitário do Canela, 40140 Salvador, Bahia, Brazil.

In order to evaluate the immune response of goats against *Corynebacterium pseudotuberculosis*, 23 groups, comprising 196 animals, were immunized with several antigenic preparations obtained from the bacteriae, at different time intervals, and using various kinds of adjuvants. The results indicated that the rate of immunoprotection in the immunized animals challenged after 120 days was below 60%. The animals challenged between 8 and 10 months showed protection levels ranging from 44.5 to 22.3%. The lowest rate of incidence of the disease appeared in the animals challenged between 30 and 60 days after the last immunization.

INDEX TERMS: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *C. ovis*, Caseous lymphadenitis, immunoprotection, goats.

SINOPSE.- Com o objetivo de observar a imunoproteção desenvolvida em caprinos contra *Corynebacterium pseudotuberculosis* esses animais foram submetidos a diferentes esquemas de imunização, sendo utilizados inóculos de diferentes preparados antigênicos desta bactéria em intervalos de tempo variados e com diversos adjuvantes. Os resultados revelaram que o percentual de imunoproteção nos animais imunizados e desafiados 180 dias após estava abaixo de 60%. Já os animais desafiados dez meses após a primeira inoculação apresentaram níveis de imunoproteção entre 44,5 e 22,3%. O menor índice da doença foi observado nos animais desafiados entre 30 e 60 dias após a última inoculação do preparado antigênico.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *C. ovis*, linfadenite caseosa, imunoproteção, caprinos.

INTRODUÇÃO

Há muito que se busca uma vacina contra linfadenite caseosa que induza uma significativa imunoproteção. Várias tentativas tem sido feitas nesse sentido, em caprinos, ovinos e camundongos (Cameron & Fuls 1973, Cameron 1982, Nairn 1982), com resultados pouco consistentes. Anticorpos contra a exotoxina ou antígenos somáticos deste microrganismo parecem não ser importantes para combater a infecção (Cameron 1982, Garg & Chandirmani 1985). Vários tem sido os antígenos utilizados tais como bactéria inteira, viva ou morta, parede celular (Brogden et al. 1984) e toxoide obtido a partir de exotoxi-

nas (Nairn et al. 1977, Brown et al. 1986). Também foram feitas tentativas no sentido de potencializar a indução de imunização com uso de diferentes adjuvantes (Cameron & Bester 1984, Brogden et al. 1985) e de BCG (Barafat 1979). Ensaios realizados com a vacina contra *Corynebacterium pseudotuberculosis* desenvolvida pela Empresa de Pesquisa Agropecuária da Bahia (EPABA) utilizando-se a cepa 1002 (ou "Curaça"), mostraram percentuais de proteção em torno de 80% (Ribeiro 1983, comunicação pessoal). O monitoramento da cinética de produção de anticorpos anti *C. pseudotuberculosis* em animais imunizados com esta vacina mostrou que ela era capaz de induzir títulos elevados de anticorpos específicos (Pinheiro et al. 1988).

O presente trabalho relata os resultados obtidos quando se testou a vacina anteriormente mencionada bem como outros preparados antigênicos, utilizando-se a mesma cepa (1002).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados caprinos com idade a partir de 6 meses, clinicamente sadios, com sorologia negativa para *Corynebacterium pseudotuberculosis* (testado através do ensaio imunoenzimático - ELISA). Os animais foram mantidos em cativeiro na Escola de Medicina Veterinária e no Instituto de Ciências da Saúde e em criação extensiva na Fazenda Experimental de Itiuba da EPABA.

Foram utilizados os seguinte preparados antigênicos descritos abaixo:

A Vacina da EPABA constituída por *C. pseudotuberculosis*

¹ Aceito para publicação em 4 de janeiro de 1989.

² Instituto de Ciências da Saúde, Av. Reitor Miguel Calmon, s/n, Campus do Canela, 40140 Salvador, Bahia.

(cepa 1002) cultivada em caldo triptose com extrato de levedura e lactoalbumina), inativada em formol a 5% na concentração de 0,65% (volume de massa bacteriana/volume de suspensão); a esta suspensão é adicionado fosfato de alumínio na proporção 1:1, sendo a dose recomendada 6,0 ml por via subcutânea. Outros inóculos foram preparados a partir da suspensão bacteriana inativa em formol: a) sem a adição do fosfato de alumínio; b) lavando-se e ressuspensando-se a massa bacteriana em solução salina 0,85% (SS); c) com a concentração da massa bacteriana duas vezes maior (1,3% v/v); d) substituindo o fosfato de alumínio por Adjuvante Completo de Freund.

A parede bacteriana, obtida a partir da massa bacteriana quebrada em ultra-som foi centrifugada a 3.000 g por 10 min., o sobrenadante foi transferido para outro tubo e centrifugado a 10.000 g por 30 min.; o precipitado foi ressuspenso em solução salina tamponada (PBS). Utilizou-se também como antígeno o sobrenadante obtido após a centrifugação a 3.000 g. Em ambos os casos ajustou-se o inóculo para conter 1,0 mg de proteína e procedeu-se a inoculação utilizando-se fosfato de alumínio como adjuvante.

O BCG, sob a forma de Preparado comercial (CEME - Rio de Janeiro, Brasil), utilizado na dose de 0,1 ml por animal. Extratos bacterianos obtidos através de tratamento da massa bacteriana com os detergentes sódio dodecil sulfato (SDS) ou deoxicolato de sódio (DOC), em concentração de 0,5% em PBS. Tal mistura era deixada por 2h a temperatura ambiente com agitações freqüentes. Após centrifugação, o sobrenadante era dialisado repetidas vezes contra SS e ajustado para 1,0 mg de proteína por inóculo. Usou-se como adjuvante o fosfato de alumínio.

A pesquisa foi realizada utilizando-se um total de 196 animais envolvendo os seguintes experimentos:

Nos experimentos 1 a 6, cinco animais por grupo, os animais foram imunizados com a vacina da EPABA com ou sem meio de cultura e adjuvante; com BCG e *C. pseudotuberculosis*, viva, patogênica e o grupo controle com SS.

Nos experimentos 7 a 10, nove animais por grupo, os animais foram imunizados com a vacina da EPABA; com inóculo constituído por parede bacteriana; com cultura de *C. pseudotuberculosis* inativada em formol, lavada e ressuspenso em SS, e o grupo controle somente com SS.

Nos experimentos 11 a 23, dez animais por grupo, foram feitos novos ensaios com a vacina da EPABA e com a massa bacteriana inativada em formol modificando-se os intervalos de inoculação e o uso ou não de adjuvantes; também foram utilizados preparados antigênicos obtidos através da quebra da massa bacteriana com ultra-som e através do tratamento com detergentes (SDS e DOC). Nestes experimentos os animais foram mantidos em regime de criação extensiva na fazenda da EPABA.

A vacina foi sempre inoculada por via-cutânea. Os quadros 1 e 2 apresentam maiores detalhes a respeito dos inóculos utilizados, dos períodos de inoculação e dos resultados obtidos.

Os desafios foram realizadas colocando-se 50 µl de uma suspensão a 0,7% de bactéria, obtida de cultura em caldo triptose com 48 horas de incubação, sobre a pele escarificada, em dois pontos da região inguinal.

Quadro 1. Caracterização dos grupos de caprinos utilizados na experimentação controlada e resultados da imunoproteção

Experi- mento	Nº de animais	Vacinação (dias)					Vacina	Desafio (período) ^a	Resultados (Índice de proteção, %)
		0	15	30	60	180			
1	5	+		+	+		Vacina (EPABA)	120	40
2	5	+	+ ^b				BCG e HBCG + <i>C. pseudotuberculosis</i>	165	0
3	5	+		+	+		<i>C. pseudotuberculosis</i> c/ meio de cultura a 1,3% V/V + fosfato de alumínio	120	20
4	5	+		+	+		<i>C. pseudotuberculosis</i> c/meio de cultura a 0,65% V/V sem adjuvantes	120	60
5	5	+		+	+		<i>C. pseudotuberculosis</i> lavada e ressuspenso em salina a 0,65% V/V + fosfato de alumínio	120	40
6	5						Controle, sem tratamento	180 ^c	20
7	9	+			+		Vacina (EPABA)	240	45,5
8	9	+			+		Parede bacteriana 0,65% V/V + fosfato de alumínio	240	22,3
9	9	+			+		<i>C. pseudotuberculosis</i> lavada e ressuspenso em salina 0,6% V/V + fosfato de alumínio	240	33,3
10	9						Controle, sem tratamento	300 ^c	22,3

^a Dias após a última vacinação.

^b *C. pseudotuberculosis* viva, atenuada.

^c Dias após o início do experimento.

Foram realizadas biopsias e necropsias a partir de um mês após o desafio. O material caseoso dos abscessos foi retirado assepticamente e cultivado em gelose sangue, as bactérias isoladas foram caracterizadas por provas bioquímicas. O material para exame histopatológico foi retirado de abscessos em linfonodos, fígado, baço e pulmão, fixado em formol a 10%, submetido aos procedimentos rotineiros para cortes em parafina e corado com hematoxilina-eosina.

RESULTADOS

O Quadro 1 resume os resultados obtidos com os animais nos experimentos 1 a 6. De 40 a 100% dos animais imunizados com os diferentes inóculos, assim como os do grupo controle, desenvolveram linfadenite caseosa após a agressão realizada 180 dias depois do início do experimento. Os animais imunizados nos experimentos 7, 8, 9 e 10 foram agredidos 10 meses após a primeira inoculação e desenvolveram a doença numa percentagem que variou de 55,5 a 77,7%. O percentual de animais que desenvolveu linfadenite caseosa no experimento de campo variou com o tratamento e a época da "agressão" (Quadro 2). A

identificação bioquímica do microrganismo e o estudo anátomo-patológico do material de biopsia ou de necropsia confirmaram o desenvolvimento da linfadenite caseosa em todos os animais "agredidos" que apresentaram abscessos em linfonodos ou em órgãos internos (pulmão, baço e fígado).

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nos experimentos 1 e 7 (Quadro 1) com a utilização da vacina da EPABA, constituída pela massa bacteriana inativada em formol junto com o meio de cultura e fosfato de alumínio, não mostraram diferenças significativas daqueles obtidos com o uso da massa bacteriana sem o meio de cultura (experimento 4) ou sem o fosfato de alumínio (experimento 5). Da mesma forma, a utilização de um preparado com maior concentração do antígeno (experimento 3) também não interferiu sobre a resposta apresentada. O mesmo ocorreu quando se utilizou o BCG como estimulante de uma resposta macrofágica inespecífica. Tais conclusões entretanto se limitam à situação específica da agressão após 120 dias da última inoculação. No que se refere aos experimentos 7 a 10, os

Quadro 2. Caracterização dos grupos de caprinos utilizados na experimentação a campo e resultados da imunoproteção

Experi- mento	Nº de animais	Vacinação (dias)					Vacina	Desafio (período) ^a	Resultados (Índice de proteção, %)
		0	15	30	60	100			
11	10	+		+			Vacina (EPABA)	30	70
12	10	+		+			Vacina (EPABA)	60	70
13	10	+		+			Vacina (EPABA)	90	50
14	10	+				+	<i>C. pseudotuberculosis</i> lavada e ressuspensa em salina 0,65% V/V + fosfato de alumínio	90	40
15	10	+				+	<i>C. pseudotuberculosis</i> c/ meio de cultura 0,65% V/V, sem adjuvantes	90	40
16	10	+				+	<i>C. pseudotuberculosis</i> c/ meio de cultura 0,65% V/V + Adjuvante Com- pleto de Freund	30	70
17	10	+		+			<i>C. pseudotuberculosis</i> c/meio de cultura 0,65% V/V + Adjuvante Com- pleto de Freund	30	70
18	10	+				+	Parede bacteriana + Fosfato de Alumínio	30	70
19	10	+				+	Sobrenadante 300 g + Fosfato de Alumínio	30	80
20	10	+				+	Extrato obtido com SDS + Fosfato de Alumínio	30	60
21	10	+				+	Extrato obtido com DOC + Fosfato de Alumínio	30	70
22	10	+				+	Fosfato de Alumínio	90	30
23	10						Controle, sem trata- mento	190 ^b	20

^a Dias após a última vacinação.

^b Dias após o início do experimento.

resultados mostram que os percentuais de imunoproteção estão abaixo de 50% em todos os animais desafiados após oito meses da última inoculação. O experimento 8 que recebeu como antígeno a parede bacteriana e o experimento controle (experimento 10) apresentam exatamente o mesmo percentual de infecção, ou seja, 77,7%. Os experimentos 11 a 23 demonstram que a agressão sendo feita entre 30 e 60 dias após a última inoculação, resulta em menor incidência de doença, em decorrência, possivelmente, de uma estimulação inespecífica do sistema mononuclear fagocitário. Isto é particularmente válido para os ensaios realizados com a vacina da EPABA (experimentos 1, 7, 11, 12, 13), onde ocorreram percentuais de imunoproteção superiores a 70%. Após 90 dias os índices caíram para 50% ou menos no terceiro, quarto ou oitavo mês. Esta vacina é entretanto, capaz de induzir uma resposta anticórpica específica contra *C. pseudotuberculosis* com títulos altos e duradouros (Pinheiro et al. 1988). Este fato está de acordo com o observado por alguns autores, em camundongos e ovinos onde, apesar de anticorpos serem produzidos sob determinadas condições em grande quantidade, não são entretanto capazes de induzir imunoproteção (Cameron & Buchan 1966, Cameron et al., 1972, Nairn 1982, Garg & Chandiramani 1985). Os resultados obtidos com as preparações antigênicas semipurificadas (precipitados, sobrenadantes, extratos conseguidos com SDS e DOC), são preliminares e não permitem ainda discussão. Entretanto, estes procedimentos parecem ser uma importante alternativa na busca de componentes capazes de desenvolverem, nos caprinos, uma imunoproteção eficaz contra *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

REFERÊNCIAS

Barrafat A.A. 1985. Immunization against caseous lymphadenitis of sheep

- using attenuated bovine tubercle bacillus of Calmette and Guerin (BCG). Bull. Off. Int. Epizoot. 91 (9/10): 679-683.
- Bulletin de l'Off. Int. des Epizoot. 91 (9/10): 679-683.
- Brogden K.A., Cutlijo R.C. & Lehmkuhl H.D. 1984. Comparison of protection induced in lambs by *Corynebacterium pseudotuberculosis* whole cell and cell wall vaccines. Am. J. Vet. Res. 45(11):2393-2399.
- Brogden K.A., Cutlijo R.C. & Lehmkuhl H.D. 1985. Immunogenicity of *C. pseudotuberculosis* and the effect of adjuvants in mice. J. Comp. Pathol. 95(2):167-172.
- Brown C.C., Olander H. J., Bibersten E.L. & Morse S. 1986. Use of a toxoid vaccine to protect goats against intradermal challenge exposure to *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Am. J. Vet. Res. 47:116-124.
- Cameron C.M. 1982. The immunogenicity of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Proc. 3rd Int. Conf. Goat Production and Disease, p. 458-466.
- Cameron C.M. Bester I.J. 1984. An improved *Corynebacterium pseudotuberculosis* vaccine for sheep. Onderstepoort J. Vet. Res. 51(4): 263-268.
- Cameron C.M. & Bwchan L. 1966. Identification of the protective and toxic antigens of *C. pseudotuberculosis*. Onderstepoort J. Vet. Res. 33:39-48.
- Cameron C.M. & Fuls W.P. 1973. Studies on the enhancement of immunity to *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Onderstepoort J. Vet. Res. 40:103-114.
- Cameron C.M., Minnaar J.L., Engelbrecht M. & Purchon M. 1972. Immune response of merino sheep to inactivated *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Onderstepoort J. Vet. Res. 39:11-24.
- Garg D.N. & Chandiramani N.E. 1985. Cellular and humoral immune response in sheep experimentally infected with killed and live. *C. pseudotuberculosis*. Zentralbl. Bakteriologie. Mikrobiol. Hyg. 260 (1):117-122.
- Nairn M.E. 1982. The possibility of control of caseous lymphadenitis in goats by vaccination. Proc. 3rd Int. Conf. Goat Production and Disease, p. 455-456.
- Nairn M.E., Robertson J.P. McQuade N.C. 1977. The control of caseous lymphadenitis in sheep by vaccination. Proc. 54th Ann. Conf. Aust. Vet. Assoc., p. 159-168.
- Pinheiro D., Carvalho D., Schaer R. & Meyer R. 1988. A resposta humoral em caprinos imunizados com *Corynebacterium pseudotuberculosis*. II. A cinética da resposta anticórpica a diferentes esquemas de imunização. Arq. Esc. Med. Vet. UFBA. (Entregue para publicação)

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR CINCO ESPÉCIES DE *Senecio* EM BOVINOS E AVES¹

MARIA DEL CARMEN MÉNDEZ², FRANKLIN RIET-CORREA²,
ANA LUCIA SCHILD² e WALTER MARTZ³

ABSTRACT.- Méndez M.C., Riet-Correa F., Schild A.L. & Martz W. 1990. [Experimental poisoning of cattle and chicks by five *Senecio* species.] Intoxicação experimental por cinco espécies de *Senecio* em bovinos e aves. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 10(3/4):63-69. Laboratório Regional de Diagnóstico, Fac. Vet., Univ. Fed. Pelotas, Campus Universitário, Pelotas RS 96100, Brazil.

The toxicity of 5 species of *Senecio* was studied experimentally in cattle and chicks. The chicks were fed during 60 days with a ration containing 5% of dry plant. All *Senecio* species were toxic in the following sequence of toxicity: *S. brasiliensis*, *S. heterotrichius*, *S. cisplatinus*, *S. selloi* and *S. leptolobus*. To cattle the plants were administrated at 22.5, 45, 90 and 180g per kg of body weight in a period from 15 to 39 days. *S. leptolobus* was not toxic at these doses. The other 4 species were toxic indicating its participation in the occurrence of seneciosis in cattle in southern Brazil. The determination of the alkaloid content showed integerrimine and retrorsine (0.31% of dry weight) in *S. brasiliensis* and *S. heterotrichius* (0.19%); retrorsine and senecionine in *S. cisplatinus* (0.16%) and *S. selloi* (0.10%) and neosenkirkine and florosenine in *S. leptolobus* (0.005%). Integerrimine, retrorsine, mixtures of integerrimine-retrorsine and neosenkirkine-florosenine were fed to chicken at 50mg per kg of food during 45 days. The mixture of neosenkirkine-florosenine was less toxic than the others. The alkaloids showed less toxicity than the dried plants, due probably to the loss of alkaloids during extraction or drying procedure or storage conditions of the plants.

INDEX TERMS: Hepatotoxic poisonous plants, plant poisoning, *Senecio brasiliensis*, *S. heterotrichius*, *S. cisplatinus*, *S. selloi*, *S. leptolobus*, cattle, chicks, pyrrolizidine alkaloids.

SINOPSE.- Com o objetivo de determinar a toxicidade de espécies de *Senecio* existentes na região, cinco espécies desse gênero de planta foram administradas experimentalmente a frangos e bovinos. Para os frangos, que receberam a planta dessecada misturada a 5% na ração durante 60 dias, todas as espécies resultaram tóxicas na seguinte ordem de toxicidade: *Senecio brasiliensis*, *S. heterotrichius*, *S. cisplatinus*, *S. selloi* e *S. leptolobus*. Aos bovinos, as plantas acima mencionadas foram administradas dessecadas nas doses de 22,5, 45, 90 e 180g/kg de peso vivo. *S. leptolobus* não resultou tóxico nas doses utilizadas, e as outras 4 espécies foram tóxicas, o que evidencia que elas provavelmente participam na etiologia da seneciose em bovinos da região, de vez que tem sido encontradas com evidências de terem sido consumidas. Foi realizada a determinação química do conteúdo de alcalóides das espécies de *Senecio* utilizadas, observando-se integerrimina e retrorsina em *Senecio brasiliensis* (0,31% da matéria seca) e *S. heterotrichius* (0,19%); retrorsina e senecionina em *S. cisplati-*

nus (0,16%) e *S. selloi* (0,10%) e neosenkirkina e florosenina em *S. leptolobus* (0,005%). Integerrimina, retrorsina, misturas de integerrimina e retrorsina e neosenkirkina e florosenina foram administradas a frangos, durante 45 dias, na dose de 50mg/kg de ração, sendo que as intoxicações provocadas pelos alcalóides foram menos graves que as induzidas pelas plantas dessecadas, o que, provavelmente, foi devido à perda de alcalóides durante o processo de extração e/ou durante a dessecação e armazenagem das plantas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas hepatotóxicas, intoxicação por planta, *Senecio brasiliensis*, *S. heterotrichius*, *S. cisplatinus*, *S. selloi*, *S. leptolobus*, bovinos, aves, alcalóides pirrolizidínicos.

INTRODUÇÃO

A intoxicação espontânea de bovinos por plantas do gênero *Senecio* tem sido descrita no Rio Grande do Sul, por Barros et al. (1986) e Méndez et al. (1987).

Estudos experimentais em bovinos foram realizados com *S. brasiliensis*, que é a espécie do gênero *Senecio* mais difundida no País (Tokarnia & Döbereiner 1984).

No entanto, no Rio Grande do Sul, nos estabelecimentos onde ocorre a doença na sua forma espontânea, observaram-se outras espécies de *Senecio*, às vezes encontradas em maior quantidade que *S. brasiliensis* e com

¹ Aceito para publicação em 16 de janeiro de 1989.

Trabalho financiado pela Embrapa-CPATB.

² Laboratório Regional de Diagnóstico, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPEl), Campus Universitário, Pelotas, Rio Grande do Sul 96100; bolsistas do CNPq.

³ Departamento de Química, Escola de Medicina Veterinária de Hannover, RFA (Chemisches Institut, Tierärztliche Hochschule Hannover, Bischofsholer Damm 15, D-3000 Hannover 1, Alemanha Ocidental).

evidências de terem sido consumidas, o que indicaria que a seneciose também pode ser causada pela ingestão dessas espécies (Méndez et al. 1987).

O objetivo do presente trabalho foi determinar a toxicidade das diferentes espécies de *Senecio* existentes na região. Considerando que os frangos, depois dos suínos, são os animais mais sensíveis à intoxicação por alcalóides pirrolizidínicos (Hooper 1978), esses foram utilizados juntamente com os bovinos, para determinar-se a sua possível utilização para trabalhos experimentais com essas plantas.

MATERIAL E MÉTODOS

Experimentos com as plantas em frangos

Experimento 1. *Senecio brasiliensis*, *S. heterotrichius*, *S. cisplatinus* e *S. selloi*, previamente dessecados⁴ e moídos, e conservados congelados até sua utilização, foram administrados a pintos de 1 dia de idade, misturados a 5% na ração, durante 60 dias, em um experimento com 2 repetições por tratamento e 5 frangos por repetição.

As plantas foram colhidas em fase de crescimento, no outono de 1982, e o experimento foi realizado na primavera do mesmo ano.

Todos os animais que morreram durante o experimento e os que foram sacrificados no final do mesmo, foram necropsiados colhendo-se fragmentos de fígado, rim, pulmão e sistema nervoso central (SNC) para estudo histológico.

Todos os frangos foram pesados na quarta e oitava semana do experimento.

Experimento 2. *Senecio brasiliensis*, *S. heterotrichius*, *S. cisplatinus*, *S. selloi* e *S. leptolobus*, previamente dessecados e moídos e congelados até sua utilização, foram administrados a pintos de 1 dia de idade, misturados a 5% na ração, durante 60 dias, em um experimento com 2 repetições por tratamento e 5 frangos por repetição.

A colheita das plantas foi realizada em fase de crescimento, no outono de 1983, e o experimento realizou-se no outono de 1984. Essas mesmas amostras de *Senecio* foram utilizadas na experimentação com bovinos.

Todos os frangos, os que morreram durante o experimento e os que foram sacrificados no final do mesmo, foram necropsiados, e retirados fragmentos de fígado, rim, pulmão e SNC para estudo histológico.

Registrou-se o peso individual dos animais na quarta e oitava semana de experimento, assim como o consumo total de ração por tratamento.

Experimento com alcalóides em frangos

A determinação química do conteúdo de alcalóides de 5kg de cada uma das 5 espécies de *Senecio* foi realizada na Universidade de Hannover pelo método descrito por Habermehl et al. (1988) utilizando-se as mesmas amostras administradas aos bovinos e aos frangos no Experimento 2.

Os alcalóides isolados das plantas foram administrados a pintos de 1 dia de idade, durante 45 dias. Integerrimina (*S. brasiliensis*); retrorsina (*S. cisplatinus*); retrorsina e integerrimina (*S. heterotrichius*), e neosenkirquina e florosenina (*S. leptolobus*) foram

administrados em doses de 50 mg por kg de ração, a grupos de 5 pintos cada um, sendo mantido junto um grupo controle.

Os animais que morreram durante o experimento foram necropsiados, colhendo-se fragmentos de fígado, rim, pulmão e SNC para estudo histológico.

Registrou-se o peso individual dos frangos, no final do experimento, assim como o consumo total de ração por tratamento.

Experimentos com bovinos

As amostras das diferentes espécies de *Senecio* colhidas nos anos de 1983 e 1984, após dessecadas à sombra e moídas, foram guardadas congeladas até sua utilização.

Cada bovino experimental era pesado e recebia diariamente, durante uma semana, ração comercial em quantidade equivalente a 4% do peso corporal. Após esse período o peso do animal era corrigido e este passava a receber a planta misturada com a ração, em uma dose diária equivalente a 3% do peso corporal. Os bovinos permaneceram estabulados durante o período experimental e foram pesados no final desse período. A espécie e a quantidade de planta administrada a cada bovino, assim como a duração do consumo, constam do Quadro 5.

Após o período de ingestão da planta os bovinos foram soltos a campo e permaneceram em observação por um período de pelo menos 2 anos. Os animais que morreram foram necropsiados colhendo-se fragmentos dos órgãos das cavidades abdominal e torácica e sistema nervoso central para exame histológico.

Os materiais para exame histológico de todos os experimentos foram fixados em formol a 10%, incluídos em parafina, cortados a 6 micras e corados pela hematoxilina-eosina (HE).

RESULTADOS

EXPERIMENTOS COM AS PLANTAS EM FRANGOS

Os dados referentes ao número de dias decorridos entre o início do experimento e a morte de cada frango e a média de peso por grupo do Experimento 1 constam do Quadro 1. O Quadro 2 apresenta os dados relativos ao

Quadro 1. *Intoxicação experimental por Senecio spp. (planta dessecada) em pintos (Exp. 1)*

Planta administrada	Números de dias decorridos desde o início do experimento até a morte de cada pinto	Peso	
		4ª semana g ($\bar{X} \pm S_x$)	8ª semana g ($\bar{X} \pm S_x$)
<i>S. brasiliensis</i>	8,9,10,11,12 12,12,12,13,15	-	-
<i>S. heterotrichius</i>	14,19,20,24,25 25,29,32,33,36	222 ± 20,59	-
<i>S. cisplatinus</i>	26,28,39,42,43,47	305 ± 21,30	680 ± 85,54
<i>S. selloi</i>	20,28	509 ± 23,31	1361 ± 62,00
Controle		638 ± 32,07	1780 ± 52,28

Experimento 2, e traz adicionalmente dados referentes ao consumo de ração para cada grupo experimental.

Alterações macroscópicas

Experimento 1

S. brasiliensis. Na necropsia observou-se edema subcutâneo generalizado, presença de líquido amarelo-claro

⁴ 100g das plantas verdes correspondem, em média, a 25g de planta dessecada.

Quadro 2. *Intoxicação experimental por Senecio spp. (planta dessecada) em pintos (Exp. 2)*

Planta administrada	Números de dias decorridos desde o início do experimento até a morte de cada pinto	Peso		Consumo g
		4ª semana g ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	8ª semana g ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	
<i>S. brasiliensis</i>	9,10,10,11,11 11,11,12,13,15	-	-	-
<i>S. heterotrichius</i>	10,13,13,15,16 20,22,22,31,33	-	-	2300
<i>S. cisplatinus</i>	13,16,20,21,26	205 ± 14,78	-	8900
<i>S. selloi</i>		539 ± 22,23	1815 ± 104,05	49270
<i>S. leptolobus</i>	17	456 ± 13,18	1782 ± 135,70	50550
Controle		683 ± 24,13	2091 ± 104,41	55136

nas cavidades abdominal e torácica, fígado aumentado de tamanho e com áreas hemorrágicas e vesícula biliar aumentada de tamanho.

S. heterotrichius. Os animais deste grupo apresentavam menor desenvolvimento que os frangos dos outros grupos. Observou-se, na necropsia, edema subcutâneo, presença de líquido nas cavidades abdominal e torácica, fígado aumentado de tamanho e de consistência aumentada, geralmente amarelado e com pontos hemorrágicos, e, em três casos, de aspecto nodular, superfície irregular, bordos arredondados e irregulares e espessamento da cápsula de Glisson. A parede da vesícula biliar estava edemaciada.

S. cisplatinus. As lesões observadas, tanto nos animais que morreram como nos sacrificados, foram similares às do grupo anterior, sendo que, em 4 animais, o fígado era de aspecto nodular.

S. selloi. A única lesão observada, tanto nos dois animais que morreram como nos sacrificados, foi a coloração amarelada no fígado.

Experimento 2

S. brasiliensis. As lesões observadas nos frangos deste grupo consistiram em fígados amarelos, às vezes com áreas hemorrágicas, edema da vesícula biliar e líquido amarelo-claro nas cavidades abdominal e pericárdica.

S. cisplatinus. Nos frangos que morreram durante os primeiros 30 dias do experimento, as lesões se caracterizaram por fígados amarelos, algumas vezes hemorrágicos ou com áreas amareladas e líquido nas cavidades abdominal e pericárdica. Nos animais que morreram após o 30º dia do experimento, os fígados se apresentaram fibrosos, amarelados, e com aspecto nodular; a superfície do fígado era irregular, com espessamento da cápsula de Glisson e contendo fibrina; havia edema da vesícula biliar e presença de líquido amarelo-claro nas cavidades abdominal e pericárdica.

S. heterotrichius. As lesões observadas foram similares às do grupo anteriormente mencionado, sendo que fígado de aspecto nodular foi observado somente no animal que morreu no 33º dia.

S. selloi. Os frangos deste grupo foram sacrificados no

60º dia do experimento, e apresentavam fígados amarelados, aumentados de tamanho e consistência. Em dois animais observou-se discreta quantidade de líquido amarelo-claro na cavidade abdominal.

S. leptolobus. As lesões, tanto nos animais sacrificados aos 60 dias de experimento como naquele que morreu no 17º dia, se caracterizaram por fígados aumentados de consistência, alguns dos quais eram amarelados e outros hemorrágicos. Em um animal o fígado era de aspecto nodular com a cápsula de Glisson espessada.

Alterações histológicas

Histologicamente as lesões hepáticas provocadas pela ingestão do *S. brasiliensis* caracterizaram-se por severo edema e congestão, causando desorganização do parênquima hepático, vacuolização generalizada do citoplasma dos hepatócitos e necrose de alguns hepatócitos isolados, mostrando picnose ou cariorrexia.

Os animais que ingeriram *S. heterotrichius* apresentaram a cápsula de Glisson espessada, desorganização do parênquima hepático, megalocitose, caracterizada por núcleos aumentados de tamanho com a cromatina condensada na periferia, vacuolização do citoplasma dos hepatócitos, proliferação de tecido fibroso ao redor dos vasos sanguíneos do espaço porta e centrolobular, entre os hepatócitos, bem como proliferação de células das vias biliares. Observaram-se também áreas de necrose, preferentemente subcapsulares, e nódulos hiperplásticos e severa desorganização do parênquima, sendo que em algumas áreas o tecido conjuntivo se projetava focalmente para dentro do parênquima a partir da cápsula de Glisson, dando um aspecto irregular à superfície do fígado.

As lesões apresentadas pelos frangos que consumiram *S. cisplatinus* foram semelhantes as do grupo anterior.

Os dois animais do grupo *S. selloi* que morreram no Experimento 1 e os frangos sacrificados do Experimento 2 apresentaram discreta megalocitose, vacuolização do citoplasma dos hepatócitos, fibrose periportal e proliferação de células das vias biliares.

No grupo de *S. leptolobus* (Exp. 2), tanto o animal que morreu aos 17 dias como os sacrificados no final do experimento apresentaram desorganização do parênquima

hepático, discreta megalocitose e vacuolização do citoplasma dos hepatócitos. Em um dos animais sacrificados, observou-se, além dessas lesões, a superfície do fígado irregular e formação de nódulos hiperplásticos.

Os demais órgãos não apresentaram lesões de significação.

EXPERIMENTOS COM OS ALCALÓIDES EM FRANGOS

Os alcalóides isolados de cada uma das plantas de *Senecio*, assim como o conteúdo total, em percentagem da matéria seca, presente em cada espécie, constam do Quadro 3.

Os alcalóides administrados, média de peso por grupo e consumo total de ração por tratamento ao final do experimento, assim como os animais que morreram durante o mesmo, constam do Quadro 4.

Quadro 3. Concentração total e tipo de alcalóides isolados das espécies de *Senecio* estudadas

Alcalóides pirrolizidínicos	Espécies ^a				
	<i>S. bras.</i>	<i>S. het.</i>	<i>S. cis.</i>	<i>S. selloi</i>	<i>S. lep.</i>
Integerrimina	+	+	-	-	-
Retrorsina	+	+	+	+	-
Senecionina	-	-	+	+	-
Noesenkirquina	-	-	-	-	+
Florosena	-	-	-	-	+
Concentração (% matéria seca)	0,31	0,19	0,16	0,10	0,005

^a *S. bras.* = *Senecio brasiliensis*, *S. het.* = *S. heterotrichus*, *S. cis.* = *S. cis-platinus*, *S. lep.* = *S. leptolobus*.

Nas necropsias dos animais sacrificados no final do experimento, todos os frangos dos grupos integerrimina, retrorsina, retrorsina e integerrimina apresentaram fígados amarelados, e, em um frango deste último grupo, o fígado era de aspecto nodular.

Os animais do grupo neosenkirquina e florosena apresentaram, na necropsia, áreas hemorrágicas na superfície

Quadro 4. Intoxicação experimental pelos alcalóides isolados de *Senecio* spp.

Alcalóides administrados	Média de peso por grupo g ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)	Consumo total por grupo g
Integerrimina ^a	186,25 \pm 11,61	2830
Retrorsina ^b	167,5 \pm 8,26	3730
Retrorsina, integerrimina ^c	157,5 \pm 5,54	2280
Florosena, neosenkirquina	304 \pm 10,45	4440
Controle	375 \pm 5,83	6420

^a Morreu um animal no 17º dia do experimento, apresentando áreas hemorrágicas no fígado.

^b Morreu um frango no 16º dia do experimento, apresentando pontos amarelos no fígado.

^c Morreu um animal no 35º dia do experimento, apresentando o fígado amarelo.

do fígado. Essa lesão foi observada também em alguns animais do grupo controle.

Histologicamente, nos fígados dos frangos do grupo integerrimina, observou-se megalocitose, caracterizada por aumento do núcleo e do citoplasma, atingindo aproximadamente 2 vezes o tamanho dos hepatócitos dos animais do grupo controle. Em alguns núcleos a cromatina encontrava-se condensada na periferia. Observou-se também fina vacuolização do citoplasma, discreta fibrose ao redor dos vasos sanguíneos e discreta proliferação de células das vias biliares.

As lesões provocadas pela retrorsina foram muito similares às do grupo anterior. A megalocitose era menos severa nos frangos deste grupo e a proliferação de células das vias biliares era mais acentuada que nos animais do grupo integerrimina.

Nos animais do grupo integerrimina e retrorsina, as lesões histológicas observadas caracterizaram-se por megalocitose, sendo que os hepatócitos estavam aumentados 2,5 a 3 vezes o tamanho dos hepatócitos normais; havia fina vacuolização do citoplasma e proliferação de tecido fibroso ao redor dos vasos sanguíneos do espaço porta e centrolobular, entre os hepatócitos. Em um frango, no qual se observou macroscopicamente o fígado de aspecto nodular, a lesão histológica se caracterizou por uma severa desorganização do parênquima hepático com megalocitose, cápsula de Glisson muito espessada e recoberta de fibrina, sendo que em algumas áreas o tecido conjuntivo se projetava focalmente para dentro do parênquima a partir da cápsula de Glisson dando um aspecto irregular à superfície do fígado.

Nos fígados dos frangos do grupo neosenkirquina e florosena, histologicamente, observou-se, megalocitose, que era similar à observada nos animais dos primeiros grupos, discreta fibrose ao redor dos vasos sanguíneos e discreta proliferação de células das vias biliares.

EXPERIMENTOS COM BOVINOS

Os bovinos que morreram em consequência da intoxicação, a espécie de *Senecio* e consumo da mesma, em gramas por kg de peso, assim como o tempo de sobrevivência após finalizada a ingestão constam do Quadro 5.

O *Bovino 3*, nove dias após ter finalizado o consumo de *S. brasiliensis*, apresentou sintomatologia clínica caracterizada por movimentos laterais da cabeça, pressionando-a contra as paredes e objetos; salivação excessiva; ranger de dentes e lesões inflamatórias nas pálpebras, focinho, lábios e na face ventral da língua. Apresentava também edema submandibular e da barbeta.

Nos dias seguintes as lesões de dermatite se agravaram e se estenderam a outras partes do corpo do animal. Os edemas se acentuaram e as fezes tornaram-se endurecidas. O animal estava desidratado, ligeiramente icterico, não conseguia manter-se em pé, não se alimentava e foi sacrificado no 13º dia após finalizado o consumo da planta.

Na necropsia, observou-se discreta quantidade de lí-

Quadro 5. Intoxicação experimental em bovinos por *Senecio*

Animal nº	Espécie de <i>Senecio</i>	Total de consumo g/kg (dias)	Dias de sobrevivência após finalizada a ingestão da planta
1	<i>S. brasiliensis</i>	22,5 (15)	Adoceu, mas sobreviveu
2	"	45 (23)	- ^a
3	"	90 (27)	13 ^b
4	<i>S. leptolobus</i>	22,5 (15)	-
5	"	45 (15)	-
6	"	90 (15)	-
7	"	180 (30)	-
8	<i>S. heterotrichius</i>	22,5 (15)	-
9	"	45 (15)	-
10	"	90 (18)	-
11	"	180 (39)	5
12	<i>S. selloi</i>	22,5 (15)	150 ^b
13	"	45 (15)	-
14	"	90 (15)	-
15	"	180 (30)	83
16	<i>S. cisplatinus</i>	22,5 (15)	37
17	"	45 (15)	2

a - = Ausência de sintomas.

b Sacrificado, em estado terminal.

quido amarelo-claro na cavidade abdominal e edemas no mesentério e intestino. O fígado estava com sua consistência aumentada e a parede da vesícula biliar edemaciada e com conteúdo grumoso. Também foi observado edema da pélvis renal e hemorragias peri e endocárdicas.

Histologicamente, no fígado, as alterações caracterizam-se por megalocitose; também observaram-se núcleos em picnose ou cariorexia. O citoplasma dos hepatócitos apresentava vacuolização fina. Observou-se bile nos canalículos biliares, e as vezes dentro do citoplasma dos hepatócitos. Os demais órgãos da cavidade abdominal, os da cavidade torácica e o SNC não apresentaram lesões histológicas de significação.

O *Bovino 1*, que recebeu *S. brasiliensis* na dose de 22,5g/kg de peso, apresentou sintomatologia clínica caracterizada por diarreia, edema submandibular e tenesmo retal intermitente, por um período de aproximadamente 30 dias. Essa sintomatologia foi evidenciada 1 ano após o período de ingestão. O animal ficou em observação por um período superior a 2 anos, apresentando retardo no crescimento.

O *Bovino 11* apresentou discreto edema submandibular e da barbeta no 21º dia da administração de *S. heterotrichius*. A partir do 25º dia os edemas diminuíram e desapareceram nos dias posteriores, observando-se novamente edema submandibular discreto a partir do 35º dia. No 39º dia finalizou-se a administração da planta e os edemas se acentuaram novamente até a morte do animal, que aconteceu 5 dias após ter finalizado o consumo da planta.

Na necropsia observou-se edema palpebral e da esclerótica, edema subcutâneo nos membros posteriores, no prepúcio, na região esternal e na região intermandibular; edema no intestino, abomaso e pélvis renal e líquido amarelo-claro nas cavidades abdominal e pericárdica. O fígado estava de coloração escura e ao corte apresentava áreas escuras intercaladas com áreas claras. A vesícula biliar estava com a parede edemaciada e bile grumosa.

A lesão histológica do fígado caracterizou-se por severa hemorragia e edema do espaço de Disse, discreta megalocitose e fibrose periportal. Os demais órgãos da cavidade abdominal e os da cavidade torácica não apresentaram lesões de significação. No SNC observou-se espongiado muito discreto no córtex, tálamo e cápsula interna.

O *Bovino 12*, que ingeriu *S. selloi* na dose de 22.5g/kg de peso, aproximadamente 30 dias após finalizada a administração da planta começou a perder peso progressivamente, sendo sacrificado aos 150 dias, após finalizado o consumo, quando encontrava-se caquético e em decúbito permanente.

As lesões macroscópicas observadas na necropsia foram discreto edema submandibular, edemas generalizados no peritônio, intestino e abomaso, edema perirrenal e da pélvis renal e líquido amarelo-claro nas cavidades abdominal e pericárdica. O fígado estava diminuído de tamanho e com ligeira resistência ao corte. A vesícula biliar estava edemaciada e apresentava pequenos nódulos na mucosa.

Histologicamente, a lesão do fígado caracterizou-se por megalocitose generalizada, vacuolização do citoplasma, fibrose severa e intensa proliferação de células das vias biliares no parênquima. Observaram-se também núcleos picnóticos. Grande quantidade de megalócitos apresentava núcleos muito aumentados de tamanho, com desaparecimento da estrutura interna e a cromatina localizada na periferia. Na vesícula biliar, observaram-se nódulos cobertos por epitélio de aparência adenomatosa com hiperplasia do tecido conectivo na lâmina própria. No SNC, observou-se discreta espongiado na cápsula interna, tálamo, tubérculos quadrigêneos, pedúnculos cerebelares, ponte e medula oblonga. Os demais órgãos não apresentaram lesões de significação.

O *Bovino 15*, aproximadamente aos 65 dias após ter finalizado o consumo de *S. selloi* apresentou lesões de dermatite no focinho, anorexia e apatia. Posteriormente observou-se que o animal estava desidratado e com o abdômen dilatado, morrendo no 83º dia após finalizado o consumo da planta.

Na necropsia apresentava grande quantidade de líquido de cor âmbar na cavidade abdominal e discreta quantidade no saco pericárdico, edema no mesentério e intestino grosso e vesícula biliar aumentada de tamanho. O fígado estava aumentado de tamanho, de cor amarelada, e de consistência firme.

Ao exame histológico do fígado observou-se espessamento da cápsula de Glisson, desorganização do parênquima hepático, megalocitose, fibrose severa e intensa proliferação de células das vias biliares. Os demais órgãos das cavidades abdominal e torácica não apresentaram lesões de significação patológica. Nos cortes do SNC observou-se discreta espongiado na cápsula interna, tálamo e tubérculos quadrigêmeos.

O *Bovino 16* que ingeriu *S. cisplatinus*, na dose de 22,5g/kg de peso, apresentava-se, no 35º dia após o con-

sumo da planta, com diarreia e visível perda de peso. No 37º dia, o animal morreu afogado, provavelmente em consequência de sintomas nervosos.

As alterações macroscópicas, observadas na necropsia, caracterizaram-se por líquido nas cavidades abdominal e torácica; edema no mesentério, intestino, abomaso e pélvis renal; vesícula biliar edemaciada; fígado diminuído de tamanho, aumentado de consistência e com alterações na coloração, apresentando áreas claras e escuras. O SNC estava edemaciado e congestionado.

As alterações histológicas do fígado consistiram em megalocitose generalizada, proliferação de células das vias biliares e severa fibrose, sendo que existiam grandes áreas do parênquima hepático ocupados por tecido fibroso. No SNC observaram-se lesões de espongiose no córtex, tubérculos quadrigêmeos, tálamo, cápsula interna e pedúnculos cerebelares. Os demais órgãos não apresentaram lesões histológicas.

O *Bovino 17*, no 13º dia de consumo de *S. cisplatinus*, apresentou fezes semi-líquidas. No dia seguinte, o animal estava em decúbito esternal e tinha que ser ajudado para se levantar. Quando em pé, mostrava ataxia, incoordenação e tremores musculares na altura do flanco e na cabeça. Os movimentos ruminais estavam diminuídos e observou-se tenesmo retal. No 15º dia, o animal estava em pé, com movimentos ruminais normais e consumiu a última dose da ração experimental. Apresentava ascite e tenesmo retal. Dois dias após, o bovino amanheceu morto.

As alterações macroscópicas caracterizaram-se por diminuição do tamanho do fígado, edema perirrenal e da pélvis e presença de líquido na cavidade abdominal e saco pericárdico.

No exame histológico observou-se, no fígado, espessamento da cápsula de Glisson, com hemorragias em algumas áreas. O parênquima hepático mostrava congestão, desorganização na sua estrutura e proliferação de células das vias biliares. Nos demais órgãos, assim como no SNC, não foram observadas lesões de significação.

DISCUSSÃO

O experimento em bovinos demonstrou que 4 das 5 espécies testadas, as quais têm sido observadas em pastos onde ocorreram surtos de seneciose, são tóxicas para bovinos. Portanto, conclui-se que essas 4 espécies, *S. brasiliensis*, *S. heterotrichius*, *S. cisplatinus* e *S. selloi*, provavelmente participam na etiologia de seneciose em bovinos na área de influência do Laboratório Regional de Diagnóstico, pois tem sido encontradas com evidências de terem sido consumidas. Os sinais clínicos, lesões macroscópicas e histológicas foram similares aos observados nos casos espontâneos de intoxicação por *Senecio* spp. (Méndez et al. 1987). Nas condições deste experimento, somente *S. leptolobus* não resultou tóxico para bovinos nas diferentes doses utilizadas, indicando que, provavelmente, essa seria a única espécie, entre as testadas, que não causaria intoxicação em condições de campo.

Com relação ao grau de toxicidade de cada espécie, para bovinos, não é possível tirar-se conclusões, uma vez que utilizou-se somente um bovino para cada dose experimental, sem repetições. Apesar disso parece evidente que *S. cisplatinus* foi a espécie mais tóxica, já que causou a morte dos animais nas doses de 22,5g/kg e 45g/kg de peso.

S. selloi causou intoxicação na dose de 22,5g/kg e 180g/kg, no entanto os animais que receberam 45g/kg e 90g/kg de peso sobreviveram. Esse fato é explicado, provavelmente, por variações na susceptibilidade dos animais utilizados.

Outro dado a ser levado em conta é que *S. brasiliensis* causou sintomatologia clínica na dose de 22,5g/kg, mas somente foi letal na dose de 90g/kg de peso. No entanto, Tokarnia & Döbereiner (1984) reproduziram a doença utilizando doses menores. Essas diferenças poderiam ser explicadas pelas possíveis variações de toxicidade da planta devido ao seu conteúdo de alcalóides.

Neste trabalho as lesões macroscópicas e histológicas observadas nos frangos foram similares às descritas por outros autores para as espécies de *Senecio* (Gopinath & Ford 1977). Segundo Hooper (1978), os frangos, depois dos suínos, são os animais mais suscetíveis à intoxicação por alcalóides pirrolizidínicos. Trabalhos experimentais realizados por Cheeke & Pierson-Goeger (1983), com o objetivo de determinar espécies que pudessem ser utilizadas como modelos experimentais, concluíram que os animais de laboratório (roedores) eram resistentes à intoxicação, e os frangos altamente suscetíveis.

Neste trabalho, nos dois experimentos realizados em frangos, utilizando-se plantas colhidas em anos diferentes, resultaram tóxicas *S. brasiliensis*, *S. heterotrichius*, *S. cisplatinus*, *S. selloi* e *S. leptolobus*, nessa ordem de toxicidade. Estes dados estão de acordo com o conteúdo de alcalóides encontrados em cada uma das espécies utilizadas. Nos bovinos, apesar das limitações deste experimento, no qual foi utilizado somente um animal por tratamento, parece que os resultados obtidos foram diferentes dos observados nos frangos quanto à toxicidade das espécies, o que indicaria que os frangos não podem ser recomendados como modelo para extrapolação de dados para bovinos, ao menos para as espécies de *Senecio* estudadas.

Neste experimento, as diferentes plantas utilizadas foram colhidas no mesmo estágio de crescimento, o que permite comparar sua toxicidade. No entanto, devemos considerar que o conteúdo e tipo de alcalóides presentes nas plantas poderiam variar em diferentes épocas, locais e estágios de crescimento. Segundo Johnson & Molyneux (1984), a toxicidade de *Senecio* spp. varia de acordo com a composição individual de alcalóides pirrolizidínicos de cada espécie; com o conteúdo total de alcalóides, que varia de acordo com o ciclo vegetativo, local e de ano para ano; com a capacidade de cada animal de transformar, no fígado, os alcalóides pirrolizidínicos não tóxicos em seus

componentes tóxicos e com a relativa toxicidade desses compostos formados.

Os alcalóides integerrimina e retrorsina apresentaram toxicidade similar nos frangos, mas as lesões produzidas pela administração de integerrimina juntamente com retrorsina foram mais severas que as provocadas por um so desses alcalóides. Florosenina e neosenkirkina causaram lesões histológicas similares às causadas pela integerrimina e pela retrorsina, mas provavelmente os primeiros são menos tóxicos, já que nenhum animal desse grupo morreu, e esses obtiveram maior ganho de peso do que os outros grupos. Isso explica também a não toxicidade de *S. leptolobus* para bovinos, que poderia ser devido ao tipo de alcalóides presentes nessa espécie e também ao fato de que a concentração total de alcalóides isolados dessa espécie ter sido mais baixa que as das outras espécies. Em uma outra amostra de *S. leptolobus*, colhida em época e local diferentes da amostra utilizada neste experimento, a concentração total de alcalóides foi de 0,34%, isolando-se integerrimina além de florosenina e neosenkirkina (Habermehl et al. 1988), o que evidencia a variação de toxicidade dessa espécie.

Nos experimentos com frangos as rações contendo 5% de *S. cisplatinus*, no qual foi determinado 0,1% de retrorsina, a concentração desse alcalóide seria de 50mg por kg de ração; no entanto, observou-se que nos experimentos com alcalóides a 50mg por kg de ração, a toxicidade foi

menor que a das rações contendo 5% de planta dessecada. Isso poderia ser devido à perda de alcalóides durante o processo de extração, e/ou durante a dessecação e armazenagem, indicando que a concentração de alcalóides nas plantas é maior que a determinada através dos métodos de extração utilizados.

REFERÊNCIAS

- Barros C., Weiblen R., Santurio J., Moreira W. & Saraiva D. 1986. Relatório, Centro de Diagnóstico Veterinário, Santa Maria, RS, p. 22-23.
- Cheeke P.R. & Pierson-Goeger M.L. 1983. Toxicity of *Senecio jacobaea* and pyrrolizidine alkaloids in various laboratory animals and avian species. *Toxicology Letters* 18:343-349.
- Gopinath C. & Ford J.H. 1977. The effect of ragwort (*Senecio jacobaea*) on the liver of the domestic fowl (*Gallus domesticus*): a histopathological and enzyme histochemical study. *Br. Poult. Sci.* 18:137-141.
- Habermehl G.G., Martz W., Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Méndez M.C. 1988. Livestock poisoning in South America by species of the *Senecio* plant. *Toxicon* 26:275-286.
- Hooper P.T. 1978. Pyrrolizidine alkaloid poisoning-pathology with particular reference to differences in animal and plant species, p. 161-176. In: Keeler R.F., Van Kampen K.R. & James L.F. (ed.) *Effect of Poisonous Plants on Livestock*. Academic Press, New York.
- Johnson A.E. & Molyneux R.J. 1984. Toxicity of treadleaf groundsel (*Senecio douglasii* var. *longilobus*) to cattle. *Am. J. Vet. Res.* 45:26-31.
- Méndez M.C., Riet-Correa F. & Schild A.L. 1987. Intoxicação por *Senecio* spp. (Compositae) em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 7(2):51-56.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1984. Intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* (Compositae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 4(2):39-65.

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Sessea brasiliensis* (Solanaceae) EM BOVINOS, OVINOS E CAPRINOS¹

JOSÉ HENRIQUE F. CHAULET², PAULO VARGAS PEIXOTO³ e CARLOS HUBINGER TOKARNIA⁴

ABSTRACT.- Chaulet J.H.F., Peixoto P.V. & Tokarnia C.H. 1990. [Experimental poisoning of bovines, ovines and goats by *Sessea brasiliensis* (Solanaceae).] Intoxicação experimental por *Sessea brasiliensis* (Solanaceae) em bovinos, ovinos e caprinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 10(3/4):71-84. Embrapa-NPSA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851, Brazil.

The toxicity of *Sessea brasiliensis* Toledo, a tree of the Solanaceae family, to cattle, sheep and goats was examined in further experimental feeding trials. 30 g/kg of fresh green plant collected during the dry season (August) was lethal to all animals. The symptomatology, the post-mortem findings and histological lesions, confirm the essentially hepatotoxic action of the plant. For the first time it was also possible to experimentally produce the nervous symptoms of excitation sometimes seen in natural poisoning. The experiments with bovines given repeated sublethal doses of the dried plant, showed that the plant can as well produce a toxic hepatitis, probably due to a cumulative effect, as well as hepatic cirrhosis, due to a slighter but continuous aggression. The experiments performed in sheep and goats indicate that the plant is less toxic during the rainy season. The course of the poisoning in the experiments with single doses in sheep (up to 32 hours) was similar to that in cattle, but in the majority of goats the course was much longer (5 days). There were few symptoms of poisoning in sheep and goats; only anorexia was observed in sheep, whilst goats also had softer faeces. All bovines given single doses showed a nut-meg appearance of the cut surface of the liver. Only some of the sheep and goats had this lesion. Histopathologically, the principal lesion was severe necrosis, which affected the centre and intermediate zones of the liver lobule in all 3 animal species. A greater incidence of degenerative lesions in the kidney was seen in goats perhaps due to the longer course of the poisoning than that of cattle and sheep.

INDEX TERMS: Poisonous plants, experimental plant poisoning, *Sessea brasiliensis*, Solanaceae, bovines, sheep, goats, pathology.

SINOPSE.- Com o objetivo de complementar os dados sobre a toxidez de *Sessea brasiliensis*, Toledo, árvore da família Solanaceae, em bovinos e também testar a sensibilidade de ovinos e caprinos a essa planta, foram realizadas diversas séries de experimentos nessas espécies. Confirmou-se que a dose letal da planta verde fresca coletada na época de seca (agosto) é 30 g/kg para bovinos; essa também é a dose letal para ovinos e caprinos. A sintomatologia nervosa de excitação às vezes descrita na intoxicação confirmam a ação essencialmente hepatotóxica para bovinos, ovinos e caprinos. Pela primeira vez conseguiu-se reproduzir a sintomatologia nervosa de excitação às vezes descrita na intoxicação espontânea. Os experimentos em bovinos de administrações repetidas de doses subletais da planta dessecada demonstraram que a planta tanto pode provocar uma distrofia hepática grave (hepatite tóxica), que parece resultar de efeito tóxico acumulativo, como causar cirrose hepática, possivelmente resultante de

uma agressão mais leve, porém contínua. Os experimentos em ovinos e caprinos indicam que na época de chuva a planta é menos tóxica. A evolução da intoxicação nos ovinos foi semelhante à dos bovinos (até 32 horas), porém na maioria dos caprinos essa foi bem mais longa (5 dias). Os sintomas da intoxicação nos ovinos e caprinos foram bastante escassos; nos ovinos observou-se praticamente só anorexia, nos caprinos adicionalmente diminuição da consistência das fezes. Enquanto todos os bovinos dos experimentos de administrações únicas tinham a superfície de corte do fígado com aspecto de noz moscada, só parte dos ovinos e caprinos mostraram essa lesão. Em relação aos achados histopatológicos chama a atenção, que além da acentuada necrose das zonas centrolobular e intermediária do fígado, principal lesão em todas as 3 espécies animais, nos caprinos havia uma incidência maior de lesões degenerativas no rim que nos ovinos e bovinos, o que talvez esteja relacionado com a evolução mais longa nessa espécie.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, *Sessea brasiliensis*, Solanaceae, intoxicação experimental por planta, bovinos, ovinos, caprinos, patologia.

INTRODUÇÃO

Um dos grupos de plantas tóxicas de interesse pecuário mais importantes no Brasil é o das plantas hepatotóxicas.

¹ Aceito para publicação em 30 de janeiro de 1989.

² Delegacia Regional de Agricultura, Estrada AC 1, Km 5, Rio Branco, Acre 69900.

³ Bolsista do CNPq (302342-86/VT-FC), Unidade de Apoio ao Programa Nacional de Pesquisa em Saúde Animal (UAPNPSA), Embrapa. Km 47, Seropédica, RJ 23851.

⁴ Departamento de Nutrição Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23851; bolsista do CNPq (305010-76/VT).

No Brasil conhecemos as seguintes plantas deste grupo: *Cestrum laevigatum* (Döbereiner et al. 1969, Nunes 1972) e *Sessea brasiliensis* (Andrade 1960, Canella et al. 1968) na região Sudeste, a primeira dessas também ocorrendo nas regiões Centro-Oeste e Nordeste, *Vernonia mollissima* (Döbereiner et al. 1976, Gava et al. 1987, Stolf et al. 1987, Tokarnia et al. 1986) e *Vernonia rubri-caulis* (Tokarnia & Döbereiner 1982) na região Centro-Oeste, *Cestrum parqui* (Riet-Correa et al. 1986), *Senecio* spp. (Tokarnia & Döbereiner 1984, Méndez et al. 1987, Barros et al. 1987, Barros et al. 1989) e *Echium plantagineum* (Méndez et al. 1985) na região Sul.

Em condições naturais, as 5 primeiras causam intoxicação aguda com distrofia hepática severa (hepatite tóxica), enquanto as 2 últimas causam intoxicação crônica com cirrose hepática. Experimentalmente conseguiu-se reproduzir a intoxicação aguda com as 6 primeiras plantas acima relacionadas e a intoxicação crônica com *Cestrum laevigatum*, *Senecio brasiliensis* e *Echium plantagineum*. A ocorrência de um quadro ou outro, no caso da intoxicação por *Cestrum laevigatum* e *Senecio brasiliensis*, dependeu da dose diária e do prazo em que a planta era ingerida.

Existem diversos estudos sobre a ação tóxica de *Sessea brasiliensis*. Experimentalmente tem sido intoxicados, por via oral, bovinos, tanto com os frutos (Andrade 1960), como com as folhas (Canella et al. 1968). Adicionalmente ainda coelhos tem sido intoxicados experimentalmente, por via oral, com as sementes (Andrade et al. 1963) e cobaios com o fruto (Andrade et al. 1963) e partes não especificadas (Saad & Camargo 1965).

Com o objetivo de complementar os dados sobre a toxicidade de *Sessea brasiliensis*, esse trabalho visa:

- determinar se a planta mantém sua toxicidade após a dessecação,
- verificar se a planta tem a capacidade de provocar uma intoxicação crônica, visto que ocorrem na região de sua ocorrência casos de cirrose hepática de etiologia ainda não esclarecida,
- avaliar a sua toxicidade para ovinos e caprinos, visto serem animais de menor porte que bovinos, também ruminantes, para estudos posteriores sobre a ação tóxica da planta e isolamento de princípios tóxicos, e
- verificar, através da experimentação em ovinos e caprinos, se há variação da toxicidade da planta de acordo com a estação do ano.

Adicionalmente, são feitas comparações com os resultados obtidos por outros autores com *Sessea brasiliensis* e comparações com as alterações histológicas verificadas na intoxicação por outras plantas hepatotóxicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

No presente estudo foram utilizados 12 bovinos jovens desmamados, com idade de 1 a 2 anos, 10 ovinos e 10 caprinos adultos, todos mestiços, clinicamente sadios, de ambos os sexos, procedentes do município de Itaguaí, Rio de Janeiro. Os animais foram previamente everminados e mantidos em jejum 24 horas antes do início dos experimentos.

Planta

As folhas de *Sessea brasiliensis* foram colhidas no vale do rio Paraíba nos municípios de Lorena, Piquete e Pindamonhangaba, Estado de São Paulo. Foram colhidas a brotação e as folhas tenras. A coleta foi realizada em 4 viagens, em 2 épocas distintas: de seca (4 e 5 de agosto de 1981, 26 de agosto a 2 de setembro de 1981, 23 e 24 de agosto de 1982), e de chuva (2 de março de 1982).

Para os experimentos com os brotos e as folhas dessecados, esses eram deixados à sombra e revirados diariamente até completamente secos.

Experimentos

Podem ser divididos em 5 grupos:

- Inicialmente foram feitos experimentos, utilizando-se 3 bovinos, com a planta verde fresca, em doses únicas, na época de seca, para confirmar a toxicidade da planta, se esta estava de acordo com os dados da literatura.
 - Foram feitos experimentos em 4 bovinos com a planta dessecada, coletada na época de seca, em administrações únicas, para verificar se a planta continuava tóxica, decorridos 6 meses da coleta.
 - Foram realizados experimentos em 5 bovinos com a planta dessecada colhida na época de seca, em administrações repetidas, na tentativa de provocar uma intoxicação crônica.
 - Foram realizados experimentos de administrações únicas da planta verde fresca em 6 ovinos com a planta coletada na época de seca e em 4 com a planta coletada na época de chuva, para testar a sensibilidade desta espécie e para verificar uma eventual variação de toxicidade da planta de acordo com a estação de ano.
 - Foram realizados experimentos de administrações únicas com a planta verde fresca em 7 caprinos com a planta coletada na época de seca e em 3 com a planta coletada na época de chuva, com os mesmos objetivos dos experimentos feitos em ovinos.
- A planta era pesada e administrada manualmente na boca dos animais, nos experimentos de administrações únicas, em doses que variaram de 7,5 a 60 g/kg, nos experimentos de administrações repetidas, em doses diárias de 2,5 e 5,0 g/kg. Nos experimentos de administrações únicas foi usada a planta verde fresca e a dessecada, nos de administrações repetidas só a planta dessecada. As doses acima indicadas para a planta dessecada são as equivalentes a planta verde fresca. Os animais eram submetidos a pesagens semanais e, nos experimentos de administrações repetidas, as quantidades da planta administradas sempre eram reajustadas de acordo com a última pesagem.

Exames clínicos

Foram realizados exames clínicos diariamente, iniciando-se no dia anterior ao experimento, sendo que após o aparecimento dos primeiros sintomas, as observações eram efetuadas várias vezes ao dia. Estas constavam principalmente da verificação do aspecto e comportamento geral, apetite, aparência das fezes, temperatura retal, movimentos do rúmen, frequências cardíaca e respiratória.

Exames anátomo e histopatológicos

Os animais que morreram foram necropsiados imediatamente após a morte; fragmentos de coração, pulmão, fígado, rim, baço, linfonodos, sistema nervoso central e tubo digestivo foram coletados em formol 10% para exames histopatológicos. O material após fixado, foi processado, incluído em parafina, cortado na espessura de 5 micra, sendo após corado pela hematoxilina-eosina (HE). Adicionalmente, cortes de fígado foram submetidos à coloração de Masson para fibras colágenas (Mallory 1938) e ao método para fibras reticulares com carbonato de prata de Hortega modificado por Foot (Mallory 1938). Além disto foram feitos de fígado e rim cortes de congelamento que foram corados pelo

Sudan III para evidênciação de gordura (Pallaske & Schmidel 1959).

RESULTADOS

A brotação e as folhas tenras de *Sessee brasiliensis* se mostraram tóxicas para bovinos, ovinos e caprinos, tanto quando administradas em estado verde fresco, como dessecado, tanto nos experimentos de administrações únicas como nos de administrações repetidas.

De um total de 12 bovinos, 10 adoeceram, dos quais 7 morreram e 2 foram sacrificados após terem-se recuperado. Dos 10 ovinos, 8 adoeceram, dos quais 2 morreram e os restantes se recuperaram. Dos 10 caprinos, 8 adoeceram, dos quais 3 morreram, e os demais se recuperaram. Os principais dados sobre os experimentos encontram-se nos Quadros 1 e 2. Pormenores sobre os experimentos são fornecidos nos "Dados Experimentais" resumidos.

Os resultados mais importantes obtidos estão delineados abaixo.

Experimentos em bovinos de administrações únicas

Dose tóxica com a planta verde fresca. Nesses experimentos, realizados na época de seca (agosto), o animal que recebeu a dose de 30 g/kg (Bov. 4369), morreu, enquanto o que recebeu 15 g/kg (Bov. 4368), adoeceu e se recuperou, e o que recebeu 7,5 g/kg (Bov. 4367) não adoeceu.

Dose tóxica com a planta dessecada. Nos experimentos realizados com a planta coletada na época de seca (agosto), dose correspondente a 30 g/kg da planta verde fresca, causou a morte de um animal (Bov. 4355), enquanto que em outro (Bov. 4370) não causou quaisquer sintomas. Os animais que receberam quantidades correspondentes a 45 g/kg (Bov. 4365) e 60 g/kg (Bov. 4363) da planta verde fresca, morreram.

Quadro 1. Experimentos em bovinos com brotos e folhas de *Sessee brasiliensis*.

Bovino		Planta administrada		Dose diária (em g/kg) correspondente a planta fresca) x nº de dias administrada	Desfecho	Tempo entre início da adm. da planta e início dos sintomas	Evolução	Recuperado após come- ço da adm. da planta	Morte após começo da adm. da planta
Nº (reg. SAP)	Peso (kg)	Local e época da coleta	Data da adminis- tração						
<i>Experimentos de administrações únicas com a planta fresca</i>									
4369 (22873)	118	Lorena agosto 81	6.8.81	30	Morreu	21h 30min.	18h 30min.	-	40 horas
4368	110	"	10.8.81	15	Adoeceu + + ^c	24h 10min.	39h 40min.	63h 50min.	-
4367	111,5	Piquete agosto 81	13.8.81	7,5	Sem sintomas	-	-	-	-
<i>Experimentos de administrações únicas com a planta dessecada</i>									
4370	114	Pinda ^a agosto/ set. 81	3.2.82	30	Sem sintomas	-	-	-	-
4363 (22936)	172	"	8.2.82	60	Morreu	3h 40min.	13h 00min.	-	16h 40min.
4365 (22937)	177	"	11.2.82	45	Morreu	17h 20min.	7h 20min.	-	24h 40min.
4355 (22938)	192,5	"	15.2.82	30	Morreu	24h 15min.	50h 34min.	-	70h 49min.
<i>Experimentos de administrações repetidas com a planta dessecada</i>									
4392 (22993)	171	Pinda ^a agosto/ set. 81	7.6.82- 6.7.82	5x30	Morreu em 8.7.82	5 dias	26 dias	-	31 dias
4393 (23012)	167	"	14.7.82- 3.9.82	5x51	Morreu em 5.9.82	4 dias	49 dias	-	53 dias
4394 (23120)	161	"	7.6.82- 12.6.82 e 30.6.82- 3.9.82 ^b	5x72 (6+66)	Adoeceu + + +	4 dias	19 dias	23 dias	Sacr. em 5.5.83 (sadio)
4400 (23121)	156	"	14.7.82- 3.9.82	2,5x52	Adoeceu + +	15 dias	5 dias	20 dias	Sacr. em 5.5.83 (sadio)
4403 (23000)	123	"	14.7.82- 2.8.82	2,5x20	Morreu	20 dias	2 dias	-	22 dias

a Pindamonhangaba.

b Único animal, em que as administrações foram interrompidas, devido ao grave estado de intoxicação; recuperado após 17 dias, foi reiniciada a administração.

^c+ + Adoeceu moderadamente, + + + gravemente.

Quadro 2. Experimentos em ovinos e caprinos com brotos e folhas frescas de *Sesaea brasiliensis*, administrações únicas

Animal		Planta administrada			Desfecho	Tempo entre início da adm. da planta e início dos sintomas	Evolução	Recuperado após começo da adm. da planta	Morte após começo da adm. da planta
Nº (reg. SAP)	Peso (kg)	Local da coleta	Data do experimento	Dose (em g/kg)					
<i>Experimentos em ovinos</i>									
4440 (22874)	28	Lorena	7.8.81	30	Morreu	?	?	-	19h 30min.
4441	29	"	10.8.81	15	Adoeceu +	1 dia	2 dias	3 dias	-
4442	22,5	Piquete	12.8.81	7,5	Adoeceu +	1 dia	1 dia	2 dias	-
4422	35	Pinda ^a	5.3.82	15	Sem sintomas	-	-	-	-
4429	35	"	7.3.82	30	Adoeceu +	1 dia	1 dia	2 dias	-
4420	26	"	9.3.82	45	Adoeceu + a + (+)	1 dia	3 dias	4 dias	-
4421	22	"	12.3.82	60	Adoeceu ++	1 dia	4 dias	5 dias	-
4425 (23010)	40	"	26.8.82	30	Morreu	23h 20min.	32h 09min.	-	55h 29min.
4426	46	"	28.8.82	15	Adoeceu ++	1 dia	4 dias	5 dias	-
4418	41,5	"	30.8.82	7,5	Sem sintomas	-	-	-	-
<i>Experimentos em caprinos</i>									
4437 (22889)	20,6	Lorena	8.8.81	30	Morreu	17h 30min.	5 dias	1h 45 min.	5 dias 19h 15min.
4438	25,5	"	16.8.81	15	Adoeceu +	1 dia	8 dias	9 dias	-
4435	30,5	Piquete	17.8.81	7,5	Adoeceu +	1 dia	12 dias	13 dias	-
4412	15	Pinda	4.3.82	30	Adoeceu +++	1 dia	4 dias	5 dias	-
4417	13	"	8.3.82	15	Sem sintomas	-	-	-	-
4439 (22958)	12	"	9.3.82	45	Morreu	24 horas	5 dias 13h	-	6 dias 13h
4415	18	"	27.8.82	30	Adoeceu + a + (+)	1 dia	3 dias	4 dias	-
4416 (23011)	15	"	27.8.82	30	Morreu	24h 15min.	9h	-	33h 15min.
4414	20	"	29.8.82	15	Adoeceu +	1 dia	2 dias	3 dias	-
4436	21	"	30.8.82	7,5	Sem sintomas	-	-	-	-

^a Pindamonhangaba.

^b +++ Adoeceu gravemente, ++ moderadamente, + levemente, (+) discretamente.

Início dos sintomas após o começo da administração da planta. Nos experimentos com a planta verde fresca ou dessecada, este período situou-se ao redor de 24 horas, com uma única exceção (no Bov. 4363, que recebeu o correspondente a 60 g/kg da planta verde, esse período foi de 3h 40min.)

A *evolução* da intoxicação nos casos fatais, nos experimentos com a planta verde fresca ou dessecada, oscilou entre 7h 20min. e 50h 34min. O prazo desde o começo da administração da planta até a morte dos bovinos, nos experimentos com a planta verde fresca ou dessecada, foi de 16h 40min. a 70h 49min.

Os *sintomas* observados na intoxicação pela planta verde fresca ou dessecada, foram anorexia acentuada (em todos os 5 bovinos que adoeceram); as fezes em alguns animais (Bov. 4369, 4368, 4355) eram menos consistentes, em outros (Bov. 4363, 4365) secas sob forma de esferas. Nas fezes de alguns animais (Bov. 4368, 4363, 4355) havia presença de muco e, em alguns (Bov. 4365, 4355), de sangue. A maioria dos animais (Bov. 4369, 4368, 4365, 4355) apresentou tremores musculares. Dois animais (Bov. 4369, 4355) tiveram sialorréia, dois (Bov.

4365, 4355) faziam movimentos vazios de mastigação. Um animal (Bov. 4355) lambia o solo. Um animal (Bov. 4355) apresentou sintomas nervosos de excitação sob forma de inquietação, andar cambaleante e muito incoordenado; tornou-se agressivo, não respeitava obstáculos, parecia cego e andava sem parar. Além destes sintomas, os animais de uma maneira geral ainda mostravam apatia, focinho seco, diminuição ou parada dos movimentos do rúmen, e, às vezes, taquicárdia e dispnéia.

Os *achados de necropsia* relacionavam-se principalmente ao fígado. Dos 4 animais que morreram, 2 apresentavam, ao corte nítido aspecto de noz-moscada, e os 2 outros, leve aspecto de noz-moscada; neste último caso percebia-se nitidamente a lobulação hepática. Na superfície do fígado havia, em 3 dos 4 casos, pequenas hemorragias subcapsulares. A parede da vesícula biliar estava espessada por edema em 3 dos 4 casos. Em todos os 4 casos foram verificadas hemorragias no coração, sob forma de petéquias no epicárdio e de equimoses no endocárdio. O conteúdo do omaso estava ressequido nos 4 casos e o do cólon ressequido com presença de muco e sangue, em 2 casos.

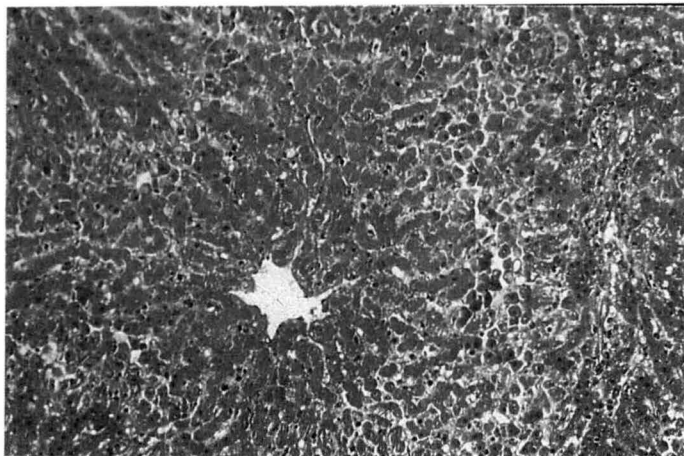


Fig. 1. Acentuada necrose dos hepatócitos na zona centrolobular. Intoxicação experimental por *Sessea brasiliensis* em bovino, administração única da planta dessecada (Bovino 4365, SAP 22937). HE, obj. 16.

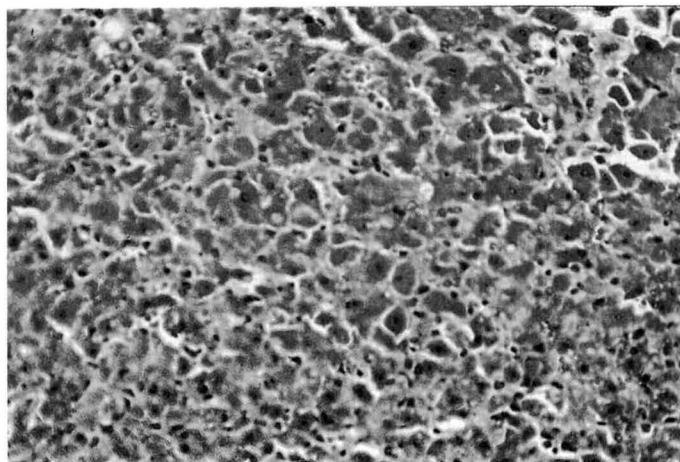


Fig. 2. Necrose difusa dos hepatócitos com picnose e cariorréxia. Intoxicação experimental por *Sessea brasiliensis*, administrações repetidas da planta dessecada (Bov. 4392, SAP 22993), HE, obj. 25.

As alterações histológicas afetavam principalmente o fígado. Nos 4 casos fatais havia, no fígado, necrose dos hepatócitos com figuras de picnose e cariorréxia na zona centrolobular (Fig. 1) e quase sempre também na zona intermediária do lóbulo hepático, acompanhada de congestão e hemorragias. Em todos os casos havia também vacuolização das células hepáticas na periferia do lóbulo hepático. O baço apresentava congestão em todos os casos. Em um caso ocorreu vacuolização das células epiteliais dos túbulos uriníferos do rim.

Experimentos em bovinos de administrações repetidas

Esses experimentos foram todos realizados com a planta dessecada. Para esses experimentos adotamos como dose letal da planta dessecada quantidade correspondente a 30 g/kg da planta verde fresca. Foram realizados experimentos com administrações repetidas de 1/6 (Bov. 4392, 4393, 4394) e de 1/12 (Bov. 4400, 4403) da dose letal. Estas foram dadas até o animal morrer (Bov. 4392, 4393, 4403) ou até um múltiplo da dose letal (Bov. 4394, 4400).

Todos os animais adoeceram. O início dos sintomas após o começo da administração da planta foi observado entre o 4º e o 20º dia. Todos os animais, com exceção de um (Bov. 4403), que adoeceu 20 dias após o início da administração da planta e morreu após 2 dias de doença, se recuperaram após um período de manifestações de sintomas de intoxicação de 5 dias (Bov. 4400), 10 dias (Bov. 4392), 19 dias (Bov. 4394) e 30 dias (Bov. 4393), apesar de se ter continuado com a administração da planta. Desses 4 animais, 2 adoeceram novamente (Bov. 4392 e 4393), 12 e 20 dias após a recuperação, respectivamente, e morreram rapidamente (Bov. 4392 após 20 horas de doença, o Bov. 4393 amanheceu morto). Dos outros dois, um (Bov. 4394) adoeceu tão gravemente que, temporariamente (durante 17 dias), suspendeu-se a administração da planta, vindo o animal a se recuperar, o ou-

tro (Bov. 4400) recuperou-se mesmo com a continuação da administração da planta. Depois esses 2 bovinos nunca mais mostraram sintomas de intoxicação, apesar de sempre receberem a planta, até as administrações perfazerem 12 e 4,3 doses letais, respectivamente. Os animais que morreram (Bov. 4392, 4393, 4403) ingeriram 6 doses letais, 8,5 doses letais e 1,66 doses letais da planta, respectivamente.

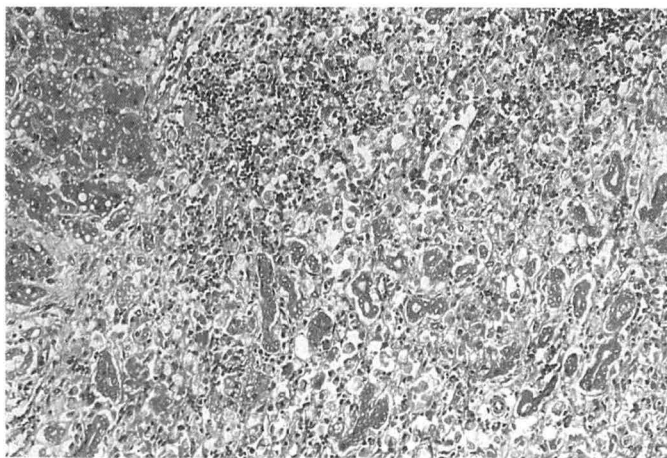
Os sintomas observados foram anorexia acentuada ou variável, em todos os 5 animais, fezes secas (Bov. 4393, 4394, 4400), sob forma de esferas, às vezes escuras, com presença de muco (Bov. 4393, 4394, 4400) e de sangue (Bov. 4394). Os animais, com exceção de um (Bov. 4400), mostraram tremores musculares. Um animal (Bov. 4394) teve sialorréia, outro (Bov. 4394) fazia movimentos vazios de mastigação e outro ainda (Bov. 4393) lambia o solo. Três animais mostraram sintomas nervosos; um deles (Bov. 4393) tinha andar cambaleante, estava irrequieto e não parava, outro (Bov. 4403) tinha andar cambaleante, parecia assustado, batia-se contra a cerca e andava com os membros anteriores bem afastados e o terceiro (Bov. 4394) se balançava continuamente, ficava em posições anormais, fazia movimentos involuntários, tornou-se agressivo, tinha andar cambaleante, chocava-se contra obstáculos e parecia cego.

Achados de necropsia significativos ocorreram no fígado de 3 animais (dos que morreram) dos 5 que receberam a planta em administrações repetidas, que em 2 (Bov. 4392, 4403) dos 3 casos apresentava-se mais duro à palpação. Em todos três, a superfície do órgão era mais clara e havia áreas (manchas) amareladas, em 2, também ao corte. Em um animal (Bov. 4403) o fígado tinha, ao corte, aspecto de noz moscada, em outro (Bov. 4393) havia nódulos de contornos irregulares. Em 2 animais (Bov. 4392, 4393) a parede da vesícula biliar apresentava-se espessada por edema. Hemorragias no coração foram vistas em 2 animais (Bov. 4392, 4393). O conteúdo do

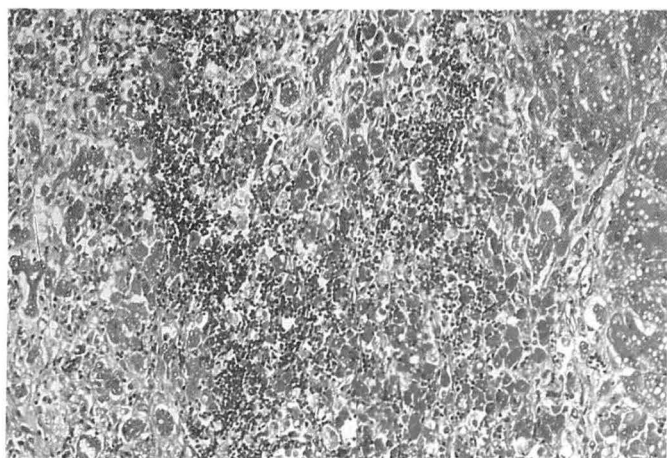
omaso mostrava-se ressequido em 1 animal (Bov. 4393), e o conteúdo do cólon ressequido com presença de muco e sangue neste mesmo animal (Bov. 4393). Leve ascite foi observada em 1 animal (Bov. 4393).

Alterações histológicas significativas somente foram encontradas no fígado dos 3 bovinos que morreram. Em 2 (Bov. 4392, 4403) consistiram em acentuada necrose dos hepatócitos, em um afetando a maior parte deles (Fig. 2), no outro sob forma de áreas, neste último acompanhada por congestão e hemorragias. Nesses 2 animais havia ainda vacuolização de hepatócitos e leve proliferação das células epiteliais das vias biliares. No terceiro animal (Bov. 4393) que morreu, as lesões hepáticas consistiram em proliferação de fibroblastos e células epiteliais das vias biliares com presença de colágeno (Fig. 3 a 6) é nódulos de regeneração, todas essas alterações em grau moderado; observou-se ainda moderada vacuolização de he-

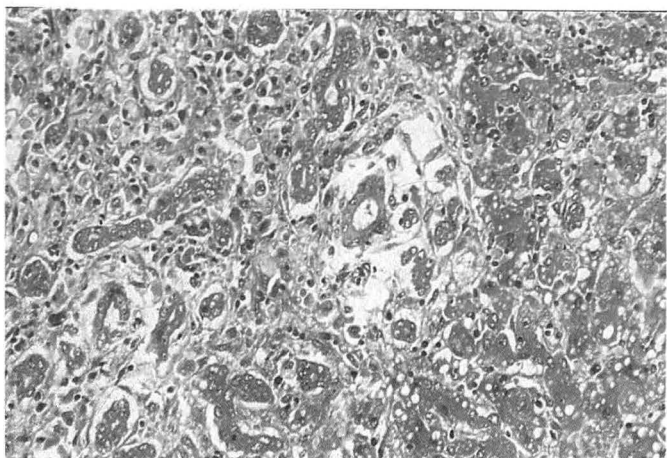
patócitos (Fig. 3, 5, 6), e leve megalocitose (Fig. 6). Desta maneira houve nos primeiros 2 animais uma hepatite tóxica aguda, enquanto que no terceiro animal cirrose hepática, lesão crônica. Nesses 3 animais constatou-se ainda congestão no baço, edema em linfonodos e sobretudo lesões renais caracterizadas por presença de substância amorfa eosinófila nos espaços de Bowman e nos túbulos uriníferos, vacuolização das células epiteliais dos túbulos uriníferos (Fig. 7) (esta também em um animal sacrificado – Bov. 4394) e espessamento dos folhetos parietais da cápsula de Bowman (Fig. 8) (em um caso com aderências com o folheto visceral), presença de cilindros hialinos em túbulos uriníferos, “degeneração em gotas hialinas”, infiltrados inflamatórios mononucleares intersticiais e fibrose intersticial. No sistema nervoso central observou-se degeneração esponjosa (“status spongiosus”) em um dos animais que morreram e nos dois que foram sacrificados.



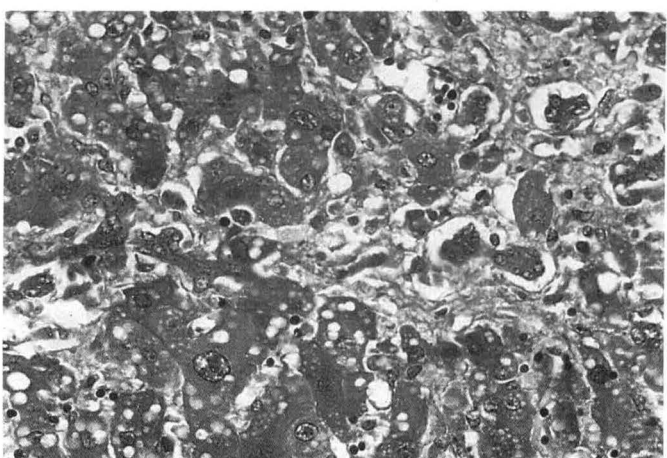
3



4



5



6

Fig. 3. Proliferação de fibroblastos e de células epiteliais das vias biliares com presença de colágeno, vacuolização de hepatócitos e hemorragias focais. Intoxicação experimental por *Sessea brasiliensis*, administrações repetidas da planta dessecada (Bov. 4393, SAP 23012). HE, obj. 16.

Fig. 5. Proliferação de células epiteliais das vias biliares, fibroplasia e vacuolização de hepatócitos. Intoxicação experimental por *Sessea brasiliensis*, administrações repetidas da planta dessecada (Bov. 4393, SAP 23012). HE, obj. 25.

Fig. 4. Necrose de hepatócitos, hemorragias, fibroplasia e proliferação de células epiteliais das vias biliares. Intoxicação experimental por *Sessea brasiliensis*, administrações repetidas da planta dessecada (Bov. 4393, SAP 23012). HE, obj. 16.

Fig. 6. Bilestase, vacuolização de hepatócitos, proliferação de vias biliares, megalocitose de hepatócitos. Intoxicação experimental por *Sessea brasiliensis*, administrações repetidas da planta dessecada (Bov. 4393, SAP 23012). HE, obj. 40.

Experimentos em ovinos e caprinos

Todos os experimentos nestas duas espécies animais foram de administrações únicas, com a planta verde fresca.

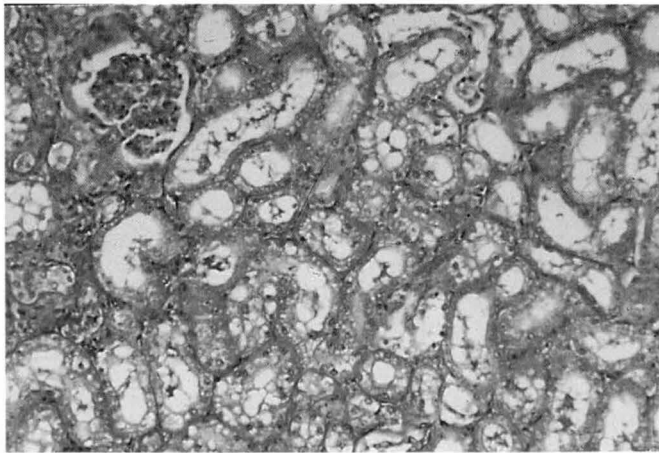
Dose tóxica. Nos experimentos em ovinos com a planta coletada na época de seca (agosto), os 2 animais (Ovinos 4440, 4425) que receberam 30 g/kg da planta, morreram, enquanto que os 2 animais (Ov. 4441, 4426) que receberam 15 g/kg, adoeceram leve ou moderadamente e se recuperaram, e os 2 (Ov. 4442, 4418) que receberam 7,5 g/kg da planta não adoeceram ou adoeceram somente levemente. Na época de chuva (março), a planta não causou a morte dos animais (Ov. 4429, 4420, 4421) que a ingeriram nas doses de 30, 45 e 60 g/kg, apesar de estes terem adoecido leve a moderadamente, recuperando-se.

Nos experimentos em caprinos com a planta coletada na época de seca (agosto), 2 animais (Caprinos 4437,

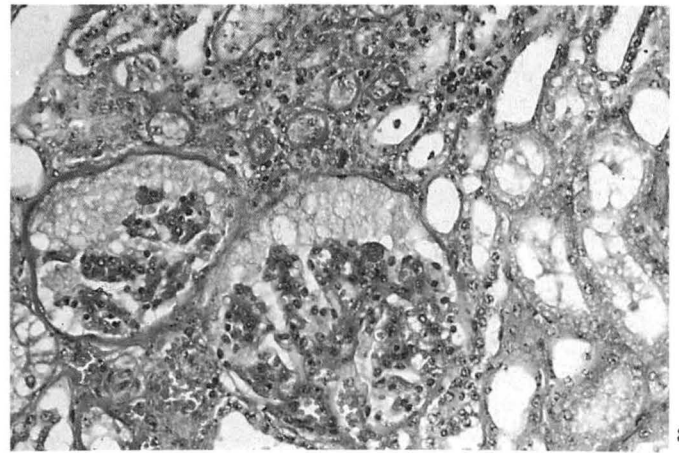
4416) dos 3 animais que receberam 30 g/kg da planta, morreram, enquanto o terceiro (Capr. 4415) adoeceu leve a moderadamente e se recuperou. Os animais que receberam 15 g/kg e 7,5 g/kg da planta adoeceram só levemente, ou não adoeceram, e se recuperaram. Na época de chuva (março), a planta causou a morte do animal (Capr. 4439) que ingeriu a dose de 45 g/kg, enquanto o que ingeriu 30g/kg (Capr. 4412) adoeceu gravemente, mas se recuperou; o que ingeriu 15 g/kg (Capr. 4417) não adoeceu.

O início dos sintomas após o começo da administração da planta, nos experimentos em ovinos e caprinos, ocorreu ao redor de 1 dia (24 horas).

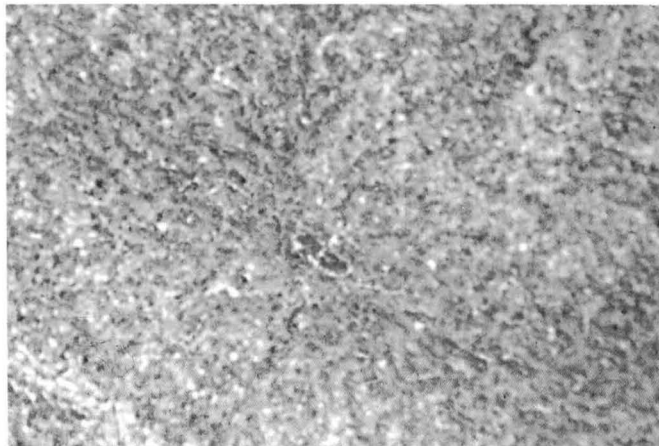
A evolução da intoxicação nos casos fatais em ovinos foi de 32 horas e menos que 19 horas, nos casos não fatais de 1 a 4 dias. Os animais ou morreram 19 e 55 horas após o início da administração ou recuperaram-se entre 2 e 5 dias após o início da administração da planta.



7



8



9



10

Fig. 7. Vacuolização acentuada das células epiteliais dos túbulos uriníferos. Intoxicação experimental por *Sessee brasiliensis*, administrações repetidas da planta dessecada (Bov. 4392, SAP 22993). HE, obj. 16.

Fig. 9. Necrose dos hepatócitos com figuras de picnose e cariorréxia afetando as zonas centrolobular e intermediária, acompanhada de congestão e hemorragias; lesão acentuada. Leve vacuolização dos hepatócitos na periferia do lóbulo. Intoxicação experimental por *Sessee brasiliensis* em ovino, administração única da planta verde fresca (Ov. 4440, SAP 22874). HE, obj. 16.

Fig. 8. Espessamento dos folhetos parietais da cápsula de Bowman. Presença de substância eosinófila nos espaços de Bowman. Intoxicação experimental por *Sessee brasiliensis*, administrações repetidas da planta dessecada (Bov. 4393, SAP 23012). HE, obj. 25.

Fig. 10. Necrose dos hepatócitos com figuras de picnose e cariorréxia das zonas centrolobular e intermediária, em grau moderado, acompanhada de congestão leve da zona intermediária. Intoxicação experimental por *Sessee brasiliensis* em caprino, administração única da planta verde fresca (Capr. 4416, SAP 23011). HE, obj. 16.

A *evolução* da intoxicação nos casos *fatais* em *caprinos* foi de 9 horas e 5 dias e nos casos *não fatais* de 2 a 12 dias. Os animais morreram 33 horas a 6 dias após o início da administração ou recuperaram-se entre 3 e 13 dias após o início da administração da planta.

Os *sintomas* observados nos experimentos realizados em *ovinos*, foram anorexia em quase todos os 8 animais que adoeceram, fezes menos consistentes (Ov. 4420), tremores musculares (Ov. 4425), apatia (Ov. 4425, 4426), inquietação (Ov. 4425, 4429), andar cambaleante (Ov. 4425).

Nos *caprinos* observou-se anorexia em todos os 8 animais que adoeceram, fezes menos consistentes em 7 animais, em 3 desses com muco (Capr. 4437, 4438, 4435) e em um com muco sanguinolento (Capr. 4437). Dois animais apresentaram tremores musculares (Capr. 4437, 4412) e 2 andar cambaleante (Capr. 4437, 4412).

Os principais *achados de necropsia* nos 2 *ovinos* que morreram localizavam-se no fígado e caracterizavam-se por coloração acinzentada na superfície e ao corte, superfície do órgão ainda com pontilhado vermelho, e ao corte, com desenho reticulado de cor vermelha (Ov. 4440), nítido aspecto de noz moscada ao corte (Ov. 4425). Havia ainda espessamento da parede da vesícula biliar por edema (Ov. 4425, 4440), hemorragias no coração (Ov. 4440), conteúdo pastoso-líquido no intestino grosso (Ov. 4440), e conteúdo ressequido sob forma de esferas no ceco (Ov. 4425).

Os *achados de necropsia* nos 3 *caprinos* caracterizaram-se por fígado, ao corte, com aspecto de noz moscada (Capr. 4437, 4439) e lobulação nítida (Capr. 4416). Adicionalmente, observou-se edema da parede da vesícula biliar (Capr. 4439), hemorragias no coração (Capr. 4437), cólon com conteúdo sob forma de esferas muito ressequidas (Capr. 4437), ceco com conteúdo ressequido sob forma de esferas com muco (Capr. 4437, 4439) e ceco com conteúdo pastoso líquido (Capr. 4416).

As *alterações histológicas* nos 2 *ovinos* que morreram nesses experimentos caracterizaram-se por necrose com figuras de picnose e cariorrexia, nas zonas centrolobular e intermediária dos lóbulos, acompanhada de congestão e hemorragias (Fig. 9) e vacuolização dos hepatócitos na periferia do lóbulo. Havia ainda congestão no baço (Ov. 4440), vacuolização de fibras cardíacas do coração (Ov. 4425). No rim foi observada a presença de substância amorfa eosinófila nos espaços de Bowman e nos túbulos uriníferos de ambos os *ovinos* e em um deles (Ov. 4425) vacuolização das células epiteliais dos túbulos uriníferos e "degeneração em gotas hialinas".

As *alterações histológicas* nos 3 *caprinos* apareciam sob forma de necrose com figuras de picnose e cariorrexia (Fig. 10), acompanhada de congestão e hemorragias, nas zonas centrolobular e intermediária em 2 animais (Capr. 4439, 4416) e nas zonas intermediária e periférica do lóbulo no terceiro (Capr. 4437); havia vacuolização das células hepáticas (nos três), às vezes até lise (Capr. 4437). Observaram-se ainda congestão no baço (Capr.

4437, 4439), edema em linfonodos (Capr. 4439) e vacuolização de fibras cardíacas (Capr. 4416). Verificou-se a presença de substância amorfa eosinófila nos espaços de Bowman e nos túbulos uriníferos (Capr. 4437, 4416) e, em todos 3, moderada a acentuada vacuolização das células epiteliais dos túbulos uriníferos. No sistema nervoso central foi constatada degeneração esponjosa em um dos animais (Capr. 4439).

Dados Experimentais

Experimentos em bovinos, com os brotos e folhas verdes de Sessea brasiliensis, administrações únicas (Quadro 1)

Bovino 4369, macho, com 118 kg, recebeu em 6.8.81 (10.30-11.30 e 13.00-15.00 h) 3540 g (= 30 g/kg) de brotos e folhas verdes de *S. brasiliensis* coletados em Lorena e Piquete, São Paulo, em 4 e 5.8.81. No dia seguinte, às 8.00 h, o animal mostrava anorexia acentuada, fezes menos consistentes, pêlo arrepiado, T* 38.9, P 114, Ru 2/5 normais; às 11.00 h estava com focinho seco, tremores musculares, não quis levantar quando tangido; às 13.30 h estava com intensa salivação, T 36.8; às 16.00 h em posição esterno-abdominal com os membros posteriores esticados para trás; ofegante; com tremores musculares, T 36.6, P 66 com batidas fortes, com falhas de 5 em 5 segundos, Ru 1/5. Às 17.25 h caiu de lado; com a cabeça em opistótono, fazendo movimentos de pedalagem ora rápidos ora lentos; coração batia forte e irregular. Mugidos ocasionais. Escoando líquido branco-róseo espumoso pela boca. Às 19.00 h o coração batia fracamente; foi observado até 22.10 h. No dia seguinte (8.8.81) às 5.30 h, foi encontrado morto, devendo ter ocorrido a morte às 2.00 h. - *Achados de necropsia*: timo com diversas petéquias. Coração com algumas petéquias no pericárdio, epicárdio e endocárdio. Fígado na superfície com áreas vermelho-escuras de 1 a 5 mm de diâmetro; ao corte, nítido aspecto de noz-moscada; vesícula biliar com parede espessada; bexiga com múltiplas petéquias; conteúdo do omaso levemente ressequido; pequena parte do duodeno com conteúdo gelatinoso avermelhado e com mucosa avermelhada. - *Exames histopatológicos* (SAP 22873) revelam, no fígado acentuada necrose com figuras de picnose e cariorrexia, associada a leve congestão, nas áreas central e intermediária dos lóbulos hepáticos, sendo que em certas áreas, havia apenas estreita faixa de hepatócitos da zona periférica, não afetada. Discreta vacuolização citoplasmática dos hepatócitos das áreas portais, que mostram-se, por vezes, infiltradas por pequena quantidade de polimorfonucleares neutrófilos. No rim leve congestão difusa. Baço com moderada congestão. Cerebelo e córtex com pequenas áreas de leve ativação endotelial.

Bovino 4368, fêmea, com 110 kg, recebeu em 10.8.81 (9.30-11.30 e 12.30-14.15 h) 1650 g (= 15 g/kg) de brotos e folhas verdes de *S. brasiliensis* coletados em Lorena e Piquete, São Paulo, em 4 e 5 de agosto de 1981. No dia seguinte, às 8.40 h estava um pouco apático e com leves tremores musculares nos posteriores. Às 10.00 h com tremores musculares em todo corpo, anorexia acentuada. Às 16.30 h com fezes pouco consistentes, escuras e de cheiro desagradável. Em 12.8.81 às 8.00 h T 38.1, P 100, Ru 3/5. Durante o dia eliminou fezes com pouco muco de cor clara, focinho seco, anorexia acentuada. Em 13.8.81 com fezes normais, comia bem, focinho úmido; considerado recuperado a partir de 13.8.81 zero horas.

Experimentos em bovinos, com os brotos e folhas dessecadas de Sessea brasiliensis, administrações únicas (Quadro 1)

Bovino 4363, macho, com 172 kg, recebeu em 8.2.82 (10.20-11.30 e 14.00-15.40 h) 2580 g (correspondendo a 60 g/kg da planta verde) de *S. brasiliensis* dessecada e moída, colhida em Pindamonhangaba, São Paulo, entre 26.8 e 2.9.81. Às 14.00 h mostrou leve timpanismo que às 16.00 h era moderado e às 16.30 h acentuado. Às 17.30 h eliminou fezes secas em forma de esferas envoltas por muco esbranquiçado. Anorexia moderada. Às 18.00 h T 39.2, P 84, Ru 0/5. No dia seguinte, às 6.00 h foi encontrado morto devendo ter morrido às 3.00 h. - *Achados de necropsia*: equimoses no saco pericárdico, epicárdio, miocárdio e endocárdio. Mucosa da traquéia com algumas patéquias. Equimoses perolaríngicas e peritraqeais. Na pleura parietal, algumas sufusões. Fígado com pequenas hemorragias subcapsulares com 1 a 2 mm de diâmetro. Parênquima mas claro com áreas irregulares de coloração vermelho-escura. Ao corte, lobulação nítida, em al-

*T = Temperatura em °C. P = frequência cardíaca por minuto. R = frequência respiratória por minuto. Ru x/y = movimentos do rúmen em minutos.

gumas partes com leve aparência de noz-moscada. Em algumas áreas fluía sangue ao corte. Parede da vesícula biliar espessada. Conteúdo do folhoso um pouco ressequido. Conteúdo do intestino delgado líquido e avermelhado em seus últimos 2 metros, com presença de regular quantidade de petéquias em sua mucosa. Ceco com pouco conteúdo líquido. Intestino grosso com conteúdo pastoso. – *Exames histopatológicos* (SAP 22936) revelam, no fígado, acentuada necrose com figuras de picnose e cariorréxia, associada a moderada congestão nas zonas central e intermediária dos lóbulos hepáticos, às vezes com presença de pequenas hemorragias. Leve vacuolização citoplasmática dos hepatócitos da zona periférica dos lóbulos, que por vezes já estão picnóticos. Discreta proliferação das vias biliares. Linfonodos mesentéricos com leve edema. No baço moderada congestão. Coração com pequenas hemorragias no miocárdio e epicárdio. Leve afastamento entre as fibras cardíacas.

Bovino 4365, macho, com 177 kg, recebeu em 11.2.82, (13.40-14.15 e 15.15-16.15 h) 1992 g (correspondendo a 45 g/kg da planta verde) de *S. brasiliensis* dessecada e moída, colhida em Pindamonhangaba, São Paulo, de 26.8 a 2.9.81. No dia seguinte, às 7.30 h estava caído, em decúbito lateral sobre o lado esquerdo, com leve timpanismo, tremores fortes e frequentes nos membros, respiração difícil, movimentos de mastigação, fofinho ressequido, olhos fundos e presença de espuma branca leitosa nas fossas nasais. T 38.3, P 92, Ru 0/5. Diversas tentativas para levantar mal sucedidas. Às 8.10 h em decúbito lateral com a cabeça em opistotônio. Tremores constantes nos membros. Acentuada dificuldade respiratória. Movimentos de pedalagem violentos. Presença de espuma nas fossas nasais. Às 9.00 h timpanismo, que às 9.15 h era acentuado. Prolapso do reto. Às 10.00 h T 37.9, P 116, Ru 0/5. Eliminou esferas de fezes com sangue bem vermelho. Às 12.00 h acentuada dificuldade respiratória, principalmente na expiração, R 16; tremores musculares nos membros anteriores. A partir de 13.50 h ocasionais contrações fortes, batendo com a cabeça no chão. Morreu às 14.20 h. – *Achados de necropsia*: área de edema gelatinoso no diafragma. Petéquias na região epicárdica, acompanhando o sulco coronário. Equimoses no endocárdio. Infemisa pulmonar intersticial e sub-pleural no lobo cardíaco e diafragmático. O fígado apresentou lobulação nítida com pontos escuros na superfície, e ao corte, fluía sangue do órgão; ao corte leve aspecto de noz-moscada. Vesícula biliar com parede bastante espessada e com conteúdo de cor amarelo-citrino. No córtex renal, algumas petéquias. Conteúdo do omaso ressequido, jejuno com esferas de fezes envolvidas por muco de coloração esbranquiçada. Cólon com fezes ressequidas envolvidas por muco sanguinolento e mucosa com algumas estrias hemorrágicas. – *Exames histopatológicos* (SAP 22937) revelam, no fígado, acentuada necrose com figuras de picnose e às vezes cariorréxia na zona central dos lóbulos, associada à leve congestão. Os hepatócitos da zona intermediária mostram-se afastados entre si, fortemente eosinofílicos, com membrana nuclear nítida e núcleos às vezes em cariorréxia (necrose). Na zona periférica parte das células hepáticas mostram-se irregularmente vacuolizadas. O rim mostra vacuolização ou tumefação de boa parte das células epiteliais dos túbulos contornados, eventualmente com núcleo em picnose. Discreto a leve espessamento do folheto parietal da cápsula de Bowman de alguns glomérulos. Pulmão mostra leve edema intersticial, com presença de algumas células inflamatórias. Linfonodos mesentéricos com discreto edema e hemorragias na zona medular. No baço, leve a moderada congestão.

Bovino 4355, macho, com 192,5 kg, recebeu em 15.2.82 (13.50 às 16.07 h) 1443.75 g (correspondendo a 30 g/kg da planta verde) de *S. brasiliensis* dessecada e moída, colhida em Pindamonhangaba, São Paulo, de 26.8 a 2.9.81. No dia seguinte, às 8.30 h encontrava-se apático, com pálpebras caídas; fazia movimentos de mastigação, mas não ruminava. Às 12.30 h T 39.0, P 64, R 16, Ru 1/4, fofinho seco, irrequieto. Às 14.05 h com andar cambaleante. Mais tarde defecou fezes moles, quase líquidas. Rangia os dentes. Deitado, esticava a cabeça apoiada no chão. Mais tarde, as fezes eram escuras, com muco de cor de chocolate. O animal lambia o solo. Às 18.45 h T 39.7, P 84, Ru 1/1. Comeu pouco durante o dia. No dia 17.2.82 às 7.00 h, estava inquieto, deitou-se e levantou-se várias vezes, eliminou fezes com muco de cor avermelhada. Caminhava muito trôpego, a contragosto, cambaleante. Pêlo arrepiado, isolou-se dos demais bovinos, quando deitado apoiava o queixo no chão. Não comia nada, deitado, cabeça apoiada contra o flanco, muito apático. Às 10.55 h, T 37.8, P 48, R 28, Ru 0/5. Tremores musculares nos membros posteriores, quando tangido andava com muita incoordenação e desequilíbrio. Leve sialorréia, defecava poucas fezes com muito muco gelatinoso. Anorexia. Às 15.00 h defecou uma esfera de fezes envolta por muito muco denso e de cor branco-amarelado. Deitou-se e levantou-se várias vezes durante o resto do dia. Dia 18.2.82, foi encontrado em pé; intensa salivação. Edema na região mentoniana e sub-mandibular; o animal estava um pouco agressivo, e ia de encontro e chocava-se aos obstáculos, parecendo não enxergar, andar muito cambaleante. Às 8.20 h, T 39.0, P 108, R 78, Ru 0/5. Muito inquieto, andava sem parar, punha a boca contra o chão e batia contra ele. Efetuava movimentos mastigatórios; te-

nesmo; muitos tremores musculares generalizados. Pupilas dilatadas, rangia os dentes, tremores em todo corpo, respiração ofegante, torcicolo, mugidos fracos ocasionais. Às 15.50 h, T 41.2, P 180, R 48, Ru 0/5. Em posição esterno-abdominal, com sialorréia. Às 16.29 h morreu nessa posição. – *Achados de necropsia*: muitas petéquias e equimoses na região inguinal. Numerosas petéquias e equimoses no saco pericárdico, epicárdio e endocárdio. Hemorragias extensas no endocárdio esquerdo. Alguns equimoses na pleura. Regular quantidade de petéquias e equimoses no tecido peritraqueal. Superfície hepática com desenho reticulado branco em um fundo escuro; ao corte, acentuado aspecto de noz-moscada. Poucas petéquias na região cranial da mucosa da bexiga. Rúmen e omaso com conteúdo levemente ressequido. Numerosas petéquias na serosa do omaso. Ceco com pouco conteúdo e em forma de esferas ressequidas, presença de poucas petéquias na mucosa. No intestino grosso conteúdo sob forma de esferas envoltas em muco de cor clara e um pouco de sangue na mucosa; na porção proximal da mucosa, numerosas petéquias, na porção final, poucas. – *Exames histopatológicos* (SAP 22938) revelam, no fígado, moderada necrose com figuras de picnose e cariorréxia nas zonas central e intermediária dos lóbulos hepáticos, associada a congestão também moderada. Moderada a acentuada vacuolização citoplasmática dos hepatócitos, na zona periférica dos lóbulos. Rim com infiltrados inflamatórios focais no interstício, glomérulos com leve espessamento do folheto parietal da cápsula de Bowman. Baço com leve congestão.

Experimentos em bovinos, com os brotos e folhas dessecados de Sessee brasiliensis, administrações repetidas (Quadro 1)

Bovino 4392, macho, com 171 kg, recebeu a partir de 7.6.82, diariamente durante 30 dias, até 6.7.82 (inclusive), 1.25 g/kg de *S. brasiliensis* sob a forma de brotos e folhas dessecados correspondendo a 5 g/kg da planta fresca, colhidos em Pindamonhangaba, São Paulo, entre 26.8 e 2.9.81. Em 11.6.82 (5º dia do experimento), o animal comeu pouco, estava lerdo, relutava em andar. No dia seguinte, o animal comeu metade da ração. Nos dias seguintes, houve variação no apetite do animal. Em 19.6.82 as fezes estavam bastante escuras, e o animal tinha perdido 23 kg em relação ao peso do dia 7.6.82. Em 20.6.82, T 38.3, P 40, Ru 2/2. Nos dias que se seguiram comia bem e as fezes estavam normais. Dia 27.6.82, T 39.0, P 60, Ru 2/4. Em 3.7.82, T 37.5, P 64, Ru 3/3. No dia 7.7.82 às 7.30 h, foi encontrado caído sobre o lado esquerdo com respiração ofegante. Mais tarde verificou-se tremores no anterior direito. Às vezes contração geral sacudindo todo corpo. Tentou-se colocá-lo em pé, sem o conseguir; foi colocado em posição esterno-abdominal, encostado na cerca da baía para não cair. Mantinha a cabeça encostada no flanco direito com a respiração ruidosa. Assustava-se facilmente com ruídos. Apresentou leves tremores na cabeça, expiração ruidosa. Às 8.35 h, T 35.7, P 56, Ru 0/5, orelhas frias, respiração ofegante, fofinho seco. Às 9.06 h, T 35.0, R 24, Ru 0/5, gemidos fracos na expiração. Extremidades frias, expiração dolorosa com gemidos, pulso caudal fraco, tremores musculares. Às 15.44 h estava inquieto, emitia gemidos fracos, fazia movimentos de pedalagem, tinha fortes tremores generalizados. Às 16.40 h em decúbito lateral com leve timpanismo. Às 21.00 h acentuado timpanismo, foi colocado na posição esterno-abdominal. Em 8.7.82 às 0.30 h deitou-se de lado (esquerdo), gemia alto e tinha tremores generalizados. Às 2.17 h, T 34.5, P 104, R 14, Ru 0/5. Morreu às 3.09 h. – *Achados de necropsia*: algumas equimoses na região peritraqueal, timo na superfície de corte com algumas petéquias. Extensas hemorragias na aurícula esquerda, numerosas petéquias no epicárdio direito, acompanhando o sulco coronário transversal. Endocárdio com numerosas equimoses disseminadas. Fígado duro à palpação, com superfície mais clara com manchas amareladas. Dezenas de hemorragias subcapsulares arredondadas com diâmetro de 1-2 mm. Superfície de corte mais clara com manchas levemente amareladas, desenho reticulado pouco aparente. A mucosa da vesícula biliar apresentou-se espessada e de cor avermelhada quase negra. Na superfície dos rins manchas de coloração pálida. Rúmen com conteúdo pastoso. Mucosa do abomaso levemente avermelhada. Conteúdo do ceco sob forma de esferas secas e com sangue a envolvê-las, mucosa difusamente vermelha. Nos primeiros 30 cm do cólon a mucosa era também difusamente vermelha, no restante, presença de poucas esferas ressequidas envoltas por sangue, na porção retal, conteúdo ressequido, sem sangue e sem muco. – *Exames histopatológicos* (SAP 22993) revelam, no fígado, necrose com figuras de picnose e cariorréxia, afetando a maior parte dos hepatócitos. Leve proliferação das células epiteliais dos ductos biliares, que às vezes se projetam por entre os cordões hepáticos. Parte das células hepáticas, mesmo necróticas, mostram citoplasma preenchido por vacúolos de diferentes tamanhos. Leve ativação das células de Kupffer, presença de raras e pequenas hemorragias e de leves infiltrados inflamatórios nos espaços-porta. No rim presença de grande quantidade de substância amorfa e eosinofílica nos espaços de Bowman e de pequena quantidade no interior dos túbulos contornados. Moderado espessamento

dos folhetos parietais da cápsula de Bowmann e forte vacuolização citoplasmática de grande parte das células epiteliais dos túbulos contornados. Muitos túbulos contêm cilindros hialinos e outros mostram degeneração em gotas hialinas nas células epiteliais. Áreas com moderado infiltrado inflamatório intersticial mononuclear e leve fibrose. Baço com leve rarefação dos folículos linfóides. Linfonodos mesentéricos com leve a moderado edema na medular. Coração com discreto afastamento entre as fibras. Pâncreas com leve vacuolização das células acinares.

Bovino 4393, macho, com 167 kg, recebeu a partir de 14.7.82, diariamente, durante 51 dias, até o dia 3.9.82 (inclusive), 1.25 g/kg de *S. brasiliensis* sob a forma de brotos e folhas desidratadas correspondendo a 5 g/kg da planta fresca, colhidos em Pindamonhangaba, São Paulo, de 26.8 a 2.9.81. Em 17.7.82, (4º dia do experimento), com diminuição do apetite. No dia seguinte comeu menos ainda. Em 19.7.82, quase sem comer, fezes negras e em esferas, com muco. Focinho seco, tremores musculares nos posteriores. Em 20.7.82 andar cambaleante, fezes escuras; lambeu o solo quando solto no piquete. Em 22.7.82, defecou pouco e de cor escura, comeu pouco. Dia 23.7.82 defecou em forma de esferas escuras e secas, não comeu nada, focinho seco. Às 16.40 h, T 38.3, P 60, R 20, Ru 3/3. Estava inquieto, não parava. Nos dias seguintes comeu pouco, mas regularmente. Em 28.7.82, quase não comeu, defecou pouco, com muco escuro e ressequido. Dia 29.7.82, passou a manhã toda deitado e sem comer. Às 16.30 h, T 38.7, P 56, Ru 0/5. Em 30.7.82, tremores em todo o corpo, comeu moderadamente, T 38.5, P 72, R 14, Ru 3/5, não defecou durante todo o dia. Em 31.7.82, às 6.30 h verificou-se poucas fezes negras e em forma de esferas. Nos dias seguintes quadro estável, com fezes pretas, secas e esporadicamente com muco escuro, alimentando-se pouco e irregularmente. Em 11.8.82 as fezes estavam normais, animal apático, comeu normalmente. Em 12.8.82, poucas fezes escuras e secas, comeu pouco. Em 13.8.82, comeu bem, animal bem disposto, fezes escuras. Até 4.9.82 sem alterações. Em 3.9.82 foi dada a última dose da planta, pois acabou. Dia 5.9.82, às 6.00 h da manhã, foi encontrado morto. — **Achados de necropsia:** pouco líquido amarelo na cavidade abdominal. Petéquias e equimoses no pericárdio e epicárdio, acompanhando o sulco coronário transversal. Algumas petéquias e equimoses no endocárdio do ventrículo direito. Pouca espuma esbranquiçada na traquéia e nos brônquios. Superfície hepática mais clara com áreas amareladas e fino desenho reticulado, de cor branca e vermelha, entremeadas, ora predominando uma, ora outra. Na metade esquerda do fígado, 25% da área ocupada por manchas de contornos irregulares, em alto relevo, de cor ocre-laranja com aspecto de mapa. Algumas petéquias subcapsulares. Ao corte, áreas levemente amareladas (ocre) com desenho reticulado vermelho bem acentuado. Nódulos de contornos irregulares, de cor ocre-laranja, em todos os planos (superficial e profundo). Vesícula biliar com algumas petéquias na serosa e leve edema de parede. Rins um pouco mais claros que o normal. Rúmen com pouco conteúdo e levemente ressequido. Leve ressecamento do conteúdo do omaso. Serosa intestinal com poucas petéquias e conteúdo mucoso. Ceco e cólon com conteúdo ressequido e em forma de esferas embebidas de sangue. — **Exames histopatológicos** (SAP 23012) revelam, no fígado, áreas em que há desaparecimento de grande parte das células hepáticas, com substituição por massa tecidual composta por fibroblastos, colágeno e grande quantidade de pseudotúbulos. Em outras áreas, os hepatócitos arranjam-se em grupos maiores ou menores e mostram forte vacuolização citoplasmática e, às vezes, necrose. Presença de nódulos de regeneração de diversos tamanhos. Leves hemorragias focais, moderada hemossiderose e leve megalocitose. No rim, boa parte dos glomérulos mostram forte espessamento dos folhetos parietais da cápsula de Bowmann, muitas vezes com esclerose glomerular. Áreas com infiltrado inflamatório mononuclear, outras com substância eosinofílica amorfa dentro dos túbulos contornados. As células epiteliais dos túbulos contornados estão vacuolizadas ou tumefeitas, e alguns túbulos contêm cilindros hialinos. Linfonodo com leve edema. No baço, congestão leve. No corno de Amon e tálamo, presença de leve degeneração esponjosa e de poucas células no espaço de Robin-Virchow de alguns vasos.

Bovino 4394, macho, com 161kg, recebeu a partir de 7.6.82, diariamente, inicialmente até 12.6.82, a quantidade de 1.25 g/kg de *S. brasiliensis* sob a forma de brotos e folhas desidratadas correspondendo a 5 g/kg da planta fresca, colhidos em Pindamonhangaba, São Paulo, de 26.8 a 2.9.81. Dia 11.6.82 comeu pouco. Em 12.6.82, estava excitado, balançava-se sem parar, assumia posições anormais, o ruído de um motor ao ser ligado, fez com que batesse com a cabeça na cerca. Fazia movimentos involuntários. Quase não comeu. Em 13.6.82, suspendeu-se a administração da planta, devido ao estado de excitação e emagrecimento. Poucas fezes negras e com muco. Agressivo, com andar cambaleante, relutância em andar, chocava-se com obstáculos, parecia estar cego, fases de excitação, mugidos fracos, salivagem espumosa, movimentos de mastigação, focinho seco. Às 11.40 h, T 39.1, P 112, R 80, Ru 0/5, mucosa conjuntiva levemente congesta. Às 15.00h encontrava-se em decúbito esterno-abdominal, cabeça virada para o lado di-

reito e encostada ao solo. Expiração bem audível à distância. Comeu pouco, focinho seco, respiração ruidosa. Às 20.15 h em pé, com a cabeça encostada no solo, gemia baixo. Às 20.30 h, T 38.9, P 116, R 53, Ru 0/5, ao deitar-se quase se jogou ao solo. Às 23.00 h continuava deitado em decúbito esterno-abdominal. Dia 14.6.82, às 6.15 h, levantou-se, muito desequilibrado, quase caindo; deitou-se logo em seguida. Respiração difícil. Às 7.58 h tremores nos posteriores, desequilíbrio ao andar, quase não conseguia manter-se em pé, cabeça baixa. Estava inquieto, tropeçava nas próprias pernas e quase caía. Batia a cabeça na cerca. Os tremores eram constantes nos posteriores, defecou duas esferas de fezes com muco com consistência de gelatina. Às 8.45 h, investia contra os outros animais e contra a cerca. De repente deitou, respiração ruidosa. Às 9.08 h voltou a deitar-se, ficou encolhido, cabeça contra o flanco direito. Às 9.15 h levantou-se, andou com dificuldade. Tremores nos posteriores, investia contra os outros animais e a cerca; corrimento nasal e ocular muco-purulento, conjuntiva congesta. Andar trêpego e cabeça baixa. Estava inquieto, deitou-se e levantou-se várias vezes, tremores, alguns gemidos, sem equilíbrio, apoiava-se nas paredes, assim mesmo caía ao chão, logo levantava-se. Às 14.45 h, T 38.6, P 84, R 72, Ru 0/5. Não comia nada. Às vezes deitado, com o queixo no chão, às vezes em pé, cabeça apoiada na parede. Tremores generalizados, T 38.5, P 100, R 56, Ru 2/5. Dia 15.6.82 às 6.30 h, em decúbito esterno-abdominal com a cabeça apoiada no posterior direito, tremores generalizados, muco catarral na ventral esquerda, T 38.5, P 104, Ru 2/4, focinho seco, conjuntivas congestas. Salivação. Ao andar parecia não enxergar nada, chocava-se contra os obstáculos. Às 9.46 h caído de lado, P 100, R 34, Ru 1/3, peso 135 kg. Fezes menos consistentes, leve sialorréia. Às 16.45 h, T 38.7, P 68, R 28, Ru 2/5. Dia 16.6.82, com sialorréia abundante, não comeu. Em 17.6.82 comeu um pouco, parecia estar melhor. De 18.6.82 até 24.6.82 comia bem, fezes normais, ruminava normalmente. Dia 25.6.82, fezes menos consistentes, animal um pouco excitado, andava em círculos no box, T 38.7, P 56, R 26, Ru 2/4, comia pouco. Nos dias seguintes o animal novamente comia bem. Em 30.6.82, animal completamente recuperado, reiniciou-se a administração da planta após interrupção de 17 dias. O animal continuou comendo a planta até dia 3.9.82, quando ela acabou, sem demonstrar alteração. Em 5.5.83, passados 8 meses da última administração da planta, foi sacrificado. — **Achados de necropsia:** fígado mais duro que o normal, à pressão. Lobulação hepática perceptível. Presença de quatro pequenas cicatrizes, sendo uma de aspecto crateriforme. A mucosa da vesícula biliar, com os vasos bem evidentes, dando uma coloração avermelhada a mucosa. Baço aumentado de volume. — **Exames histopatológicos** (SAP 23120) revelam, no fígado, leve tumefação difusa do citoplasma dos hepatócitos, acompanhada de discreta congestão e leve ativação endotelial. No rim, acentuada vacuolização das células epiteliais de parte dos túbulos contornados. Baço moderadamente congesto. No sistema nervoso central, discreta congestão à altura do núcleo caudato, áreas com moderada degeneração esponjosa sob forma de pequenos vacúolos no córtex ao nível do corno de Amon com presença de poucos linfócitos no espaço de Robin-Virchow de alguns vasos; poucos linfócitos presentes no espaço de Robin-Virchow de alguns vasos no mesencéfalo; moderada meningite na porção inferior do cerebelo.

Bovino 4400, macho, com 156 kg, recebeu diariamente a partir de 14.7.82, durante 52 dias, até 3.9.82 (inclusive), 0.625 g/kg de *S. brasiliensis* sob a forma de brotos e folhas desidratadas correspondendo a 2,5 g/kg da planta fresca, colhidos em Pindamonhangaba, São Paulo, de 26.8 a 2.9.81. No dia 28.7.82, comeu muito pouco, não quis levantar, urinou deitado, fezes escuras e secas com pouco muco claro. Catarro escorrendo pelas narinas. Em 30.7.82, não comeu nada. Dia 31.7.82, comeu pouco, fezes um pouco ressequidas. Em 1.8.82, poucas fezes sob forma de esferas enegrecidas; durante o dia comeu melhor. Em 5.5.83, às 15.00h, sadio, foi sacrificado. — **Achados de necropsia:** Sem alterações. — **Exames histopatológicos** (SAP 23121) revelam, no fígado, moderado a acentuado edema dos espaços de Disse e leve ativação das células de Kupffer. Áreas em que os hepatócitos mostram leve a moderada degeneração sob forma de gotas hialinas. Dilatação dos sinusóides e discreta proliferação de vias biliares. No coração, leves infiltrados inflamatórios mononucleares. No sistema nervoso central leve degeneração esponjosa e presença de raros linfócitos no espaço de Robin-Virchow de poucos vasos à nível do núcleo caudato; discreta degeneração esponjosa no mesencéfalo; presença de leve infiltrado inflamatório mononuclear no espaço peri-vascular de alguns vasos, na porção superior do cerebelo.

Bovino 4403, macho, com 123 kg, recebeu diariamente, a partir de 14.7.82, durante 20 dias, até dia 2.8.82 (inclusive), 0.625 g/kg de *S. brasiliensis*, sob a forma de brotos e folhas desidratadas correspondendo a 2,5 g/kg da planta fresca, colhidos em Pindamonhangaba, São Paulo, de 26.8 a 2.9.81. Em 2.8.82, o animal não comia; relutância em levantar, apático, com andar cambaleante; estava bem atento, orelhas eretas, parecia assustado. Tenesmo. Batia-se contra a cerca, membros anteriores bem afastados; às

15.15 h, T 38.1, P 84, R 13, Ru 0/5. Em 3.8.82, às 7.10h, foi encontrado deitado em decúbito lateral; respiração difícil, fortes movimentos de pedagem, tremores musculares com contrações fortes, gemidos baixos, morreu às 8.28 h. – *Achados de necropsia*: Fígado, à palpação, mostrou-se endurecido; superfície de coloração mais clara que o normal, entremeadada com áreas mais escuras. Ao corte era mais consistente que o normal e apresentava moderado aspecto de noz-moscada. – *Exames histopatológicos* (SAP 23000) revelam, no fígado, áreas com acentuada necrose difusa dos hepatócitos, com figuras de picnose e cariorréxia. Em outras porções do órgão, a necrose se restringe à parte da zona intermediária e se faz acompanhar de moderada a acentuada vacuolização do citoplasma dos hepatócitos na zona central e em parte da zona intermediária. Moderada congestão nas zonas necrosadas, preferencialmente. Leve a moderada proliferação das vias biliares e moderada ativação das células de Kupffer. No rim moderada a acentuada vacuolização difusa, discreta congestão no córtex; grande parte dos glomérulos com aderência entre os folhetos perietal e visceral da cápsula de Bowman. Coração com discreta vacuolização e/ou afastamento de fibras cardíacas. Linfonodos com leve edema na medular. Baço com leve congestão.

Experimentos em ovinos, com os brotos e folhas verdes de Sessee brasiliensis, administrações únicas (Quadro 2).

Ovino 4440, macho, 28 kg, recebeu em 7.8.81 (10.00-11.30 e 14.00-16.30 h) 840 g (= 30 g/kg) de brotos e folhas verdes de *S. brasiliensis*, coletados em Lorena e Piquete, São Paulo, em 4 e 5 de agosto de 1981. No dia seguinte, 8.8.81 às 6.00h, o animal foi encontrado morto, ainda quente, devendo ter morrido às 5.30h. – *Achados de necropsia*: Extensas hemorragias no endocárdio e ventrículo esquerdo. Poucas equimoses na porção esquerda da aurícula direita. Pulmões um pouco mais pesados e de consistência firme, apresentando, tanto externamente como na superfície de corte, um aspecto brilhante. Superfície do fígado de cor acinzentada com um pontilhado vermelho; ao corte, de coloração acinzentada, com desenho reticulado vermelho. Parede da vesícula biliar com edema moderado. Omaso pequeno, com pouco conteúdo. Abomaso com conteúdo muito líquido e com a mucosa coberta de petéquias; 30 cm após o piloro, pequena secção do intestino delgado (30 cm) com conteúdo líquido e de coloração avermelhada. Cólon e reto com conteúdo pastoso líquido. – *Exames histopatológicos* (SAP 22874) revelam, no fígado, acentuada necrose com figuras de picnose e cariorréxia, associada a forte congestão e, às vezes, hemorragias, nas zonas central e intermediária dos lóbulos hepáticos. Leve congestão e leve vacuolização citoplasmática dos hepatócitos da periferia do lóbulo, que às vezes mostram núcleos condensados ou em cariorréxia. No rim alguns glomérulos mostram pequena quantidade de substância eosinofílica amorfa nos espaços de Bowman, córtex levemente congesto. Baço com moderada congestão.

Ovino 4441, macho, com 29 kg, recebeu em 10.8.81 (15.00 às 16.30 h); 435 g (= 15 g/kg) de brotos e folhas verdes de *S. brasiliensis*, coletados em Lorena, São Paulo, em 4 e 5 de agosto de 1981. Nos dois dias subseqüentes, isto é 11 e 12.8.81, foi observada uma leve diminuição nos movimentos do rúmen. A partir de 13.8.81 não foram mais observados sintomas, e o animal foi considerado recuperado.

Ovino 4442, macho, com 22,5 Kg, recebeu em 12.8.81 (10.30 às 11.10 e 12.00 às 12.50 h), 168,75 g (= 7,5 g/kg) de brotos e folhas verdes de *S. brasiliensis*, coletados em Piquete, São Paulo, em 4 e 5 de agosto de 1981. No dia seguinte a administração, observou-se um leve aumento nos movimentos de rúmen, não comeu a ração pela manhã, T 40.1, P 132, Ru 4/2. A partir de 14.8.81 não apresentava mais sintomas, sendo considerado recuperado.

Ovino 4429, macho, com 35 kg, recebeu em 7.3.82 (10.00 às 16.20 h), 1050 g (= 30 g/kg) de brotos e folhas verdes de *S. brasiliensis*, coletados em Pindamonhangaba, São Paulo em 2.3.82. Logo após a administração, notava-se um pequeno aumento de volume na região do rúmen. No dia seguinte, isolava-se dos demais, efetuava movimentos mastigatórios, anorexia, presença de um aumento de volume na região sub-mandibular, T 40.5, P 80, R 20, Ru 2/4. Em 9.3.82, estava bastante inquieto. A partir de 10.3.82, não foram observados mais sintomas e o animal foi considerado recuperado.

Ovino 4420, macho, com 26 kg, recebeu em 9.3.82 (13.00 às 19.00 h), 1170 g (= 45 g/kg) de brotos e folhas verdes de *S. brasiliensis*, coletados em Pindamonhangaba, São Paulo, em 2.3.82. No dia 10.3.82 pela manhã, havia comido pouca ração, as fezes eram verdes coalescentes, T 39.9, P 136, R 66, Ru 5/5. Em 11.3.82, fezes pastosas bem escuras, não comeu durante a noite. Dia 12.3.82, não comeu nada, fezes moles e escuras, T 39.7, P 88, Ru 3/2. A partir de 13.3.82, não foram observados mais sintomas e o animal foi considerado recuperado.

Ovino 4421, macho, com 22 kg recebeu em 12.3.82 (9.00-12 e 13-18 h), 1320 g (= 60 g/kg) de brotos e folhas verdes de *S. brasiliensis*, coletados em Pindamonhangaba, São Paulo, em 2.3.82. No dia seguinte comeu muito pouco, rangia os dentes; fezes bem pretas no chão. Em 14.3.82, não comeu nada, Ru 3/2 de intensidade moderada. Nos dias seguintes os sintomas foram cedendo, e no dia 17.3.82 o animal foi considerado recuperado.

Ovino 4425, macho, com 40 kg, recebeu em 26.8.82 (9.00 às 16.00 h), 1200 g (= 30 g/kg) de brotos e folhas verdes de *S. brasiliensis*, coletados em Pindamonhangaba, São Paulo, em 23 e 24.8.82. No dia seguinte 27.8.82, às 8.20 h, T 38.6, P 94, R 50, Ru 0/5, conjuntivas levemente hiperêmicas. Durante o dia quase não comeu, arrastava os posteriores ao andar, estava apático; ocasionalmente com alguns tremores no quarto posterior direito. Às 16.20 h, T 38.8, P 83, R 50, Ru 0/5. Em 8.8.82 às 8.30 h, T 38.6, P 83, R 32, Ru 0/5; andar lento e cambaleante arrastando os membros; com alguns tremores pelo corpo. Às 11.00 h respiração audível a distância de um metro; inquieto. Às 13.40 h estava caído com os membros anteriores dentro do côcho, com acentuada dispnéia. Colocado em pé, quase não conseguiu se manter nessa posição; com membros bem abertos para manter o equilíbrio. Andar lento e cambaleante. Tremores pelo corpo, principalmente na cabeça, batendo os dentes como se tivesse frio. Às 14.35 h deitado, cabeça encolhida sobre o esterno, fortes movimentos de mastigação, escoando líquido espumoso pela boca. Às 16.00 h tentou levantar, mas logo caiu, tremendo todo o corpo; morreu às 16.29 h. – *Achados de necropsia*: Pequena quantidade de líquido claro na cavidade torácica. Fígado ao corte com nítido aspecto de noz-moscada. Vesícula biliar com acentuado edema de parede e conteúdo verde claro líquido. Ceco com conteúdo em forma de esferas ressequidas e escuras. – *Exames histopatológicos* (SAP 23010) revelam no fígado, acentuada necrose e figuras de picnose e cariorréxia atingindo a zona central, em outras áreas também parte da zona intermediária, e por vezes havia necrose difusa. Tumefação ou vacuolização do citoplasma dos hepatócitos da zona periférica dos lóbulos, que mostram também núcleos vesiculosos. Leve proliferação das vias biliares, raros e pequenos focos hemorrágicos. No rim, acúmulo de moderada quantidade de substância eosinofílica amorfa no interior de parte dos glomérulos e túbulos contornados. Alguns túbulos mostram intensa “degeneração em gotas hialinas”. Moderada a acentuada vacuolização difusa das células epiteliais dos túbulos contornados. Coração com moderada vacuolização e/ou afastamento entre as fibras cardíacas. No pulmão, leve congestão.

Ovino 4426, macho, com 46 kg, recebeu em 28.8.82 (9.30 às 13.45 h), 690g(15 g/kg) de brotos de folhas verdes de *S. brasiliensis*, coletados em Pindamonhangaba, São Paulo, em 23 e 24.8.82. No dia seguinte à administração, rejeitou a alimentação, T 41.0, P 124, R 44, Ru 2/5. Nos dias 30 e 31.8.82, não comeu, apático, poucas fezes escuras no chão. Em 1.9.82, comeu pouco, quieto. A partir de 2.9.82, comeu bem e o animal foi considerado recuperado.

Experimentos em caprinos, com brotos e folhas verdes de Sessee brasiliensis, administrações únicas (Quadro 2).

Caprino 4437, macho, com 20.5 kg, recebeu em 8.8.81 (14.30 às 17.40 h), 615 g (= 30 g/kg) de folhas verdes de *S. brasiliensis*, coletados em Lorena, São Paulo, em 4 e 5.8.81. No dia seguinte, 9.8.81, às 8.00 h, T 39.5, P 134, Ru 3/2. Não comeu durante o dia todo, estava bastante apático; passou a maior parte do dia em pé. Às 18.45 h Ru 2/5. Em 10.8.81 não comeu durante o dia todo. Às 7.15 h, T 38.8, P 60, Ru 2/5. Às 17.00 h deitado, cabeça baixa, fazendo movimentos de mastigação. Em 11.8.81, às 8.00 h, poucas fezes no box, escuras e aglomeradas com com muco no interior; T 38.5, P 60, Ru 2/2, não se alimentou durante o dia todo. Dia 12.8.81, estado inalterado. Às 8.30 h, T 38.9, P 68, Ru 2/2, no box poucas fezes bem negras. Em 13.8.81, o animal eliminou poucas fezes sob forma de esferas negras; comeu um pouco de capim. Às 8.00 h, T 38.3, P 64, Ru 2/4; apático; andar relutante e cambaleante; às 16.30 h, T 38.5, P 100, Ru 1/5. Em 14.8.81 às 7.00 h foi encontrado em decúbito lateral, com a respiração fraca; às 7.10 h baliu e ficou se debatendo em movimentos de pedagem. A partir de 7.30 h com tremores, respiração ruidosa; às 8.30 h deitado em decúbito lateral direito, quieto, ocasionalmente emitia balidos longos; T 35.0, P 124, Ru 0/5, fezes ressequidas e com muco sanguinolento próximo ao ânus; morreu às 9:45 h. – *Achados de necropsia*: algumas petéquias na aurícula direita. Traquéia com um pouco de espuma. Fígado, na superfície, com desenhos irregulares reticulados vermelhos em um fundo cinza-claro. Ao corte, nítido aspecto de noz-moscada. Conteúdo do ceco sob forma de esferas compactas de cor verde enegrecidas, com um pouco de muco. Cólon com conteúdo sob forma de pequenas esferas muito ressequidas e escuras com pouco muco de cor clara. – *Exames histopatológicos* (SAP 22889) revelam, no fígado, hepatócitos da zona central e de parte da zona intermediária com citoplasma moderadamente vacuolizado ou espumoso; às vezes em lise. No pernio destas áreas observa-se moderada congestão. As células hepáticas

da zona periférica e restantes da zona intermediária mostram citoplasma fortemente eosinófilo, núcleos hiper cromáticos, às vezes já em picnose ou cariorexia (necrose). Discreta proliferação das vias biliares. No rim, as células epiteliais dos túbulos contornados mostram citoplasma espumoso ou finamente vacuolizado. Alguns glomérulos e túbulos com pequena quantidade de substância eosinófila amorfa nos espaços de Bowman. No baço, moderada congestão. No coração, leve afastamento entre as fibras e aumento da eosinofilia destas.

Caprino 4438, macho, com 25,5kg, recebeu em 16.8.81 (9.00 às 14h), 382,5g (15g/kg) de brotos e folhas verdes de *S. brasiliensis*, coletados em Lorena, São Paulo, em 4 e 5.8.81. Nos dois dias seguintes a administração, o animal tossiu com frequência; no dia 21.8.81, ainda com tosse, defecou com pouco muco de cor esbranquiçada, alimentou-se pouco, T 40.3, P 136, Ru 1/3, quieto, algo abatido. A partir de 25.8.81, não apresentou mais sintomas, sendo considerado recuperado.

Caprino 4435, fêmea prenhe, com 30,5kg, recebeu em 17.8.81 (13.00 às 16.30h), 228,75g (= 7,5g/kg) de brotos e folhas verdes de *S. brasiliensis*, coletados em Piquete, São Paulo, em 4 e 5.8.81. Nos dias 18, 19 e 20.8.81, comeu muito pouco. Em 21.8.81, eliminou um pouco de muco esverdeado seguido de poucas fezes e um pouco de muco branco com pontos vermelhos. A partir de 30.8.81, não apresentou mais sintomas e foi considerado recuperado.

Caprino 4412, fêmea, com 15kg, recebeu em 4.3.82 (10.00-12.00 e 13.30-15.30 h) 450g (= 30g/kg) de brotos e folhas verdes de *S. brasiliensis*, coletados em Pindamonhangaba, São Paulo, em 2.3.82. Dia 5.3.82, às 8.15h havia comido bem durante a noite. Estava com tremores pelo corpo, deitou ao ser examinado. Às 13.00h ainda estava deitado, abatido. Às 16.00h, deitada, emitiu gemidos durante 1 hora; levantou auxiliado, mas logo deitou. Ru 1/4; às 17.30h andar meio trôpego, não comeu nada. Em 6.3.82, não comeu, T 37.8, P 52, R 16, Ru 0/5. Tremores pelo corpo, andar cambaleante, respiração ofegante, T 38.2, P 76, R 24, Ru 0/3. Em 7.3.82, comeu pouco, mais ativa. Em 8.3.82, fezes escuras e fétidas no box, T 38.0, P 60, Ru 2/3. A partir de 9.3.82, não apresentou mais sintomas e foi considerada recuperada.

Caprino 4439, macho, com 12kg, recebeu em 9.3.82 (8.00-10.00 e 13.00-15.30h), 540g (= 45g/kg) de brotos e folhas verdes de *S. brasiliensis*, coletados em Pindamonhangaba, São Paulo, em 2.3.82. No dia seguinte, 10.3.82, comeu muito pouco. Em 11.3.82 encontrava-se abatido, quase não comeu. Dia 12.3.82 não comeu nada. Em 13.3.82, às 9.00h, T 39.0, P 108, R 25, Ru 2/3; não comeu nada o dia todo. Dia 14.3.82, às 11.30h, T 39.8, P 56, R 20, Ru 0/5; fezes coalescentes em forma de montinhos pretos no box. Comeu um pouco. Em 15.3.82 não comeu nada; deitado, apático; forçado a levantar-se, caía logo em seguida. Às 17.30h, T 39.4, P 68, R 29, Ru 0/5. No dia seguinte, 16.3.82, às 7.20h foi encontrado morto, com rigidez cada-vérica completa e aumento moderado de volume abdominal; hora provável da morte 23.00h. - *Achados de necropsia*: Presença de petéquias na região sub-escapular esquerda e próximo a traquéia na entrada do tórax. Superfície do fígado de coloração mais escura, em um fundo claro; delicado desenho reticulado de cor vermelha em fundo cinza ao corte (aspecto de noz-moscada). Espessamento da parede da vesícula biliar. Ceco com conteúdo sob forma de esferas de coloração escura e envoltas em muco espesso. - *Exames histopatológicos* (SAP 22958) revelam, no fígado, moderada a acentuada necrose com figuras de picnose e cariorexia na zona central e em parte da zona intermediária, acompanhada de leve a moderada congestão na zona central dos lóbulos hepáticos. Moderada vacuolização citoplasmática dos hepatócitos da zona periférica do lóbulo, às vezes com núcleos um pouco contraídos e hiper cromáticos. Rim com acentuada vacuolização das células epiteliais de parte dos túbulos contornados. Baço com moderada congestão. Em linfonodo, leve edema. Pulmão com discreta congestão. No sistema nervoso central, bulbo e mesencéfalo pequenas áreas com leve ativação endotelial; no núcleo caudato, hipocampo, tálamo e córtex, áreas com leve degeneração esponjosa.

Caprino 4415, macho, com 18kg, recebeu em 27.8.82 (9.15 às 16h), 540g (= 30g/kg) de brotos e folhas verdes de *S. brasiliensis*, coletados em Pindamonhangaba, São Paulo, em 23 e 24.8.82. Dia 28.8.82, comeu pouco, fezes mais consistentes que o normal. Dia 29.8.82, não comeu nada, T 39.5, P 115, R 23, Ru 2/2, fezes negras coalescentes em forma de montinhos. Dia 30.8.82, comeu pouco, fezes aglutinadas e escuras. A partir de 31.8.82, não foram mais observados sintomas e o animal foi considerado recuperado.

Caprino 4416, fêmea, com 15kg, recebeu em 27.8.82 (9.15 às 16.10 h), 450g (= 30g/kg) de brotos e folhas verdes de *S. brasiliensis*, coletados em Pindamonhangaba, São Paulo, em 23 e 24.8.82. No dia seguinte, 28.8.82, às 9.20h, T 39.9, P 188, R 32, Ru 0/5. Às 11.00h gemia baixo, fezes moles. Às 15.00h estava em posição esterno-abdominal, continuando a emitir gemidos baixos. Às 18.10h estava caído de lado, com leve timpanismo. Morreu às 18.20h. - *Achados de necropsia*: Presença de pouca espuma esbranquiçada na traquéia. Algumas equimoses subpleurais. Aproximadamente

um quarto da superfície do fígado ocupado por manchas irregulares de cor mais clara, ao corte estas se aprofundavam por aproximadamente 2 a 3mm. Superfície de corte do restante do fígado, mais clara, com lobulação perceptível. No rúmen muitas folhas de *S. brasiliensis* ainda inteiras, escurecidas, misturadas ao conteúdo. Abomaso com muito conteúdo líquido. Ceco com conteúdo pastoso-líquido. Porção inicial do intestino grosso com conteúdo pastoso-líquido, porém já mais pastoso que no ceco. Restante do intestino grosso com conteúdo pastoso. Algumas petéquias e equimoses na mucosa do intestino grosso. - *Exames histopatológicos* (SAP 23011) revelam, no fígado, moderada necrose com figuras de picnose e cariorexia na zona central e parte da zona intermediária dos lóbulos hepáticos. Leve congestão, às vezes com pequenas hemorragias na zona intermediária. Acentuada e difusa vacuolização do citoplasma dos hepatócitos. No rim, acúmulo de pequena quantidade de substância eosinófila amorfa dentro dos espaços de Bowman e túbulos contornados. O citoplasma das células epiteliais tubulares mostra-se espumoso ou finamente vacuolizado, sendo que algumas poucas mostram núcleos picnóticos. Coração com parte das fibras mostrando leve vacuolização e/ou afastamento entre si. No cerebelo, bulbo e pedúnculos cerebelares, leve congestão e discretas hemorragias.

Caprino 4414, fêmea, com 20kg, recebeu em 29.8.82 (11.50 às 15.00h) 300g (15g/kg) de brotos e folhas verdes de *S. brasiliensis*, coletados em Pindamonhangaba, São Paulo, em 23 e 24.8.82. No dia seguinte, não havia comido nada durante a noite, fezes escuras. Em 31.8.82, comeu bem pouco. A partir de 1.9.82, não foram mais observados sintomas e o animal foi considerado recuperado.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os experimentos realizados, além de confirmar a toxidez de *Sessea brasiliensis* para bovinos, mostraram que a planta também é tóxica para ovinos e caprinos.

Bovinos

A dose letal da planta verde fresca (coletada em agosto), foi de 30g/kg em nossos experimentos em bovinos. Esse nível de toxidez se assemelha ao verificado por Canella et al. (1968) que provocaram a morte de bovinos com dosagens a partir de 32,0g/kg da planta verde fresca coletada em setembro/outubro. Desta maneira, pode-se aceitar 30g/kg como dose letal da planta verde fresca, para bovinos, coletada na época de seca.

Os nossos experimentos com a planta dessecada em bovinos mostram que a planta provavelmente não perdeu em toxidez pela dessecagem. O animal que não morreu e nem mostrou os mais leves sintomas (Bov. 4365) com dose correspondente a 30g/kg, parece ter sido uma exceção, isto é, um animal com certa tolerância para esta planta.

O início do aparecimento dos sintomas após a ingestão da planta, de 24 horas em nossos experimentos, foi superior ao prazo de 12 horas observado por Canella et al. (1968). Em nossos experimentos a evolução oscilou entre 7 e 50 horas, mostrando portanto uma variação maior que a observada nos experimentos realizados por Canella et al. (1968), em que ela foi de poucas horas até 24 horas.

Em relação aos sintomas, deve-se salientar que pela primeira vez conseguiu-se reproduzir a sintomatologia nervosa de excitação (Bov. 4355, 4393, 4394, 4403), às vezes descrita na intoxicação espontânea. O restante da sintomatologia foi bastante semelhante à observada por Canella et al. (1969).

Tanto em nossos experimentos de administrações únicas, como nos de Canella et al. (1968), o principal achado de necropsia foi fígado com aspecto de noz moscada, porém nós verificamos essa lesão em todos os 4 casos fatais

(leve em 2 casos), enquanto que aqueles autores a observaram em 2 dos 3 casos fatais.

No que diz respeito às alterações histológicas, os experimentos de administrações repetidas, realizadas para verificar se *Sessea brasiliensis* tem a capacidade de provocar uma intoxicação crônica, curiosamente a planta demonstrou que pode agir de 2 maneiras sobre o fígado. Nos 2 animais com distrofia hepática (hepatite tóxica), esta lesão parece resultar de um efeito tóxico acumulativo da planta; no animal com cirrose hepática, esta pode ser interpretada como resultado de uma agressão mais leve, porém contínua (intoxicação crônica).

Análise sobre a possibilidade de se conseguir um quadro de intoxicação crônica com cirrose hepática com as plantas hepatotóxicas brasileiras, foi apresentada recentemente (Gava 1987). Uma discussão sobre os conceitos "efeito acumulativo" e "intoxicação crônica" pode ser encontrada em Tokarnia & Döbereiner (1984).

Desta maneira, *Sessea brasiliensis* pode ser a causa ou uma das causas de cirrose hepática de etiologia obscura, que é observada na região de sua ocorrência.

As lesões renais agudas observadas em quase todos os experimentos de administrações repetidas em bovinos e em todos os experimentos em caprinos sugerem que a planta também possui efeito nefrotóxico. Em relação às lesões crônicas observadas nos bovinos, fica difícil determinar com certeza se elas ocorreram em função do princípio tóxico da planta ou se eram pre-existent; entretanto o aparecimento dessas lesões principalmente nos casos de administrações repetidas sugere que possam ser causadas pelo princípio tóxico. Lesões renais não foram descritas nos 3 casos de intoxicação por *Sessea brasiliensis* com administrações únicas, realizadas por Cannela (1968), nem por Andrade (1960). Sabemos que muitas substâncias são simultaneamente hepato e nefrotóxicas (Jones & Hunt 1983). Recentemente foi feita uma análise a este respeito em relação as plantas tóxicas brasileiras (Stolf et al. 1987, Tokarnia et al. 1988). Gostaríamos de complementar esta análise fornecendo os dados sobre lesões renais verificadas na intoxicação experimental por outras 2 plantas essencialmente hepatotóxicas, não incluídas naquela análise. Na intoxicação experimental aguda ou crônica em bovinos por *Cestrum laevigatum* (Döbereiner et al. 1969) encontrou-se somente presença de gotas hialinas eosinófilas nas células epiteliais de túbulos contornados proximais e coletores nos 2 casos experimentais da intoxicação crônica. Na intoxicação experimental aguda ou crônica por *Senecio brasiliensis* (Tokarnia & Döbereiner 1984) em bovinos verificou-se leve a acentuada vacuolização de células epiteliais dos túbulos uriníferos em metade dos casos.

Com relação às alterações histológicas do sistema nervoso central, observamos uma lesão conhecida como degeneração esponjosa ou "status spongiosus". Essa alteração caracteriza-se por vacuolização do parênquima nervoso e é determinada por lesões hepáticas graves, que causam hiperamonemia (Hooper 1975). Em 3 bovinos

(Bov. 4393, 4394, 4400) essa lesão foi observada. Somente em um animal (Bov. 4393) havia lesões hepáticas suficientemente graves para justificar o aparecimento desta lesão. Por outro lado dos 3 bovinos em que a lesão foi observada, só 2 (Bov. 4393, 4394) apresentaram sintomas nervosos, mais ainda, destes dois, um se recuperou e foi sacrificado 5 meses mais tarde (Bov. 4394). Por outro lado, em 2 animais (Bov. 4355 e 4403) que mostraram sintomas nervosos e morreram logo em seguida, não foi constatada degeneração esponjosa no sistema nervoso central. Desta maneira, somente em um caso (Bov. 4393) houve correlação positiva entre a manifestação de sintomas nervosos e a degeneração esponjosa do sistema nervoso central. Tratando-se de lesão reversível, no Bov. 4394 esta lesão não pode ser correlacionada com a sintomatologia mostrada 5 meses antes. Não temos explicação para esse fato.

Ovinos e caprinos

Os experimentos em ovinos e caprinos mostraram que estes têm aproximadamente a mesma sensibilidade que os bovinos a *Sessea brasiliensis*, podendo se considerar 30g/kg como a dose letal da planta verde fresca para essas espécies.

Os experimentos realizados com a planta coletada na época de chuva, indicam que nessa época a planta é menos tóxica.

A evolução da intoxicação nos 2 ovinos que morreram, foi semelhante à dos bovinos, porém em 2 dos 3 caprinos que morreram, essa foi bem mais longa.

Os sintomas da intoxicação nos ovinos e caprinos foram bastante escassos; nos ovinos observou-se praticamente só anorexia, nos caprinos, adicionalmente, diminuição na consistência das fezes.

Enquanto que na intoxicação por administrações únicas, todos os bovinos tinham, à necropsia, a superfície de corte do fígado com aspecto de noz moscada, só um dos 2 ovinos e 2 dos 3 caprinos mostravam esta lesão.

Em relação aos achados histopatológicos, chama a atenção que nos caprinos havia uma incidência maior de lesões degenerativas no rim que nos ovinos e bovinos (experimentos de administrações únicas), o que talvez esteja relacionado com a evolução mais longa (5 dias). Ainda deve ser mencionado que em 1 caprino (Capr. 4439) foi verificada degeneração esponjosa do sistema nervoso central, sem que este tivesse mostrado sintomas nervosos.

Pelos resultados obtidos, verifica-se que ovinos e caprinos podem ser usados em futuros estudos sobre a ação tóxica de *Sessea brasiliensis*.

REFERÊNCIAS

- Andrade S.O. 1960. Estudos sobre a toxicidade de *Sessea brasiliensis*. Arqs Inst. Biológico, S.Paulo, 27:191-196.
- Andrade S.O., Camargo W.V.A. & Fernandes N. 1963. Investigações sobre plantas tóxicas no Estado de São Paulo. Arqs Inst. Biológico, S.Paulo, 30:189-203.

- Barros C.S.L., Metzdorf L.L. & Peixoto P.V. 1987. Ocorrência de surtos de intoxicação por *Senecio* spp. (Compositae) em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 7(4):101-107.
- Barros C.S.L., Metzdorf L.L., Santos M.N., Barros S.S. & Peixoto P.V. 1989. Intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* (Compositae) em ovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 9(3/4):55-67.
- Canella C.F.C., Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1968. Intoxicação por *Sessea brasiliensis* Toledo em bovinos. *Pesq. Agropec. Bras.* 3:333-340.
- Döbereiner J., Tokarnia C.H. & Canella C.F.C. 1969. Intoxicação por *Cestrum laevigatum* Schlecht., a causa de mortandades em bovinos no Estado do Rio de Janeiro. *Pesq. Agropec. Bras.* 4:165-193.
- Döbereiner J., Tokarnia C.H. & Purisco E. 1976. *Vernonia mollissima*, planta tóxica responsável por mortandades de bovinos no sul de Mato Grosso. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.*, 11:49-58.
- Gava A., Peixoto P.V. & Tokarnia C.H. 1987. Intoxicação experimental por *Vernonia mollissima* (Compositae) em ovinos e bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 7(2):33-41.
- Hooper P.T. 1975. Spongy degeneration in the central nervous system of domestic animals. Part III. Occurrence and pathogenesis - Hepatocerebral disease caused by hyperammonaemia. *Acta Neuropath.* 31:343-351.
- Jones T.C. & Hunt R.D. 1983. *Veterinary Pathology*. 5th ed. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Mallory F.B. 1938. *Pathological Technique*. Saunders, Philadelphia.
- Méndez M.C., Riet-Correa F. & Schild A.L. 1987. Intoxicação por *Senecio* spp. (Compositae) em bovinos do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 7(2):51-56.
- Méndez M.C., Riet-Correa F., Schild A.L. & Garcia J.T.C. 1985. Intoxicação por *Echium plantagineum* (Boraginaceae) em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 5(2):57-63.
- Nunes L.P. 1972. Intoxicação experimental de bovinos por *Cestrum laevigatum* Schlecht. I. Sinais clínicos. II. Alterações no sangue, líquido cefalorraquiano e urina. III. Alterações anátomo e histopatológicas. Tese, 40 p. Resumo em Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte, 24(3):290-291.
- Pallaske G. & Schmidel E. 1959. *Pathologisch-histologische Technik*. Paul Parey, Berlin.
- Riet-Correa F., Schild A.L., Méndez M.C. & Pinheiro M.H. 1986. Intoxicação por *Cestrum parqui* (Solanaceae) em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 6(4):111-115.
- Saad A.D. & Camargo W.V.A. 1965. Intoxicação experimental de cobaias pela *Sessea brasiliensis* (Solanaceae). *Arqs Inst. Biológico, S.Paulo*, 31:157-166.
- Stolf L., Gava A. & Tokarnia C.H. 1987. Intoxicação experimental por *Vernonia mollissima* (Compositae) em caprinos. *Pesq. Vet. Bras.* 7(3):67-77.
- Tokarnia C.H., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 1988. Intoxicação experimental pelas folhas e extratos de *Thiloa glaucocarpa* (Combretaceae) em coelhos. *Pesq. Vet. Bras.* 8(3/4):61-74.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J., Amorim P.R., Gava A. & Consorte L.B. 1986. Intoxicação experimental por *Vernonia mollissima* (Compositae) em coelhos. *Pesq. Vet. Bras.* 6(1):5-10.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1982. Intoxicação de bovinos por *Vernonia rubricaulis* (Compositae) em Mato Grosso. *Pesq. Vet. Bras.* 2(4):143-147.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1984. Intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* (Compositae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 4(2):39-65.

INFLUÊNCIA DO NÍVEL PROTÉICO E/OU DA ACIDIFICAÇÃO DA DIETA SOBRE A DIARRÉIA PÓS-DESMAME EM LEITÕES CAUSADA POR *Escherichia coli*¹

NELSON MORES², JOSÉ LUIZ L. MARQUES², JURIJ SOBESTIANSKY², AIESCA OLIVEIRA² e LUIS SÉRGIO S. COELHO²

ABSTRACT.- Mores N., Marques, J.L.L., Sobestiansky, J., Oliveira, A., Coelho L.S.S. 1990. [Effect of pigs diet protein level and/or acidification in the *Escherichia coli* post-weaning diarrhea.] Influência do nível proteico e/ou da acidificação da dieta sobre a diarreia pós-desmama por *Escherichia coli*. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 10(3/4):85-88. Embrapa-CNPSA, Caixa Postal D-3, Concórdia, SC 89700, Brazil.

An experimental study was conducted to evaluate the possibility of preventing *Escherichia coli* post-weaning diarrhea reducing the protein level and/or acidifying the diet. Sixteen SPF (Specific Pathogen Free) Landrace piglets, 36 days old (weaning day) were used in four treatments (T) as follow: TA) control ration with 20% crude protein (CP); TB) ration similar to TA with 2% citric acid; TC) ration with 16% CP plus lysine up to 0.9%; and TD) ration similar to TC plus 2% citric acid. Rations were formulated with corn, soybean meal, minerals and vitamins. The pigs received the experimental diets from D₀ (weaning day) to D₁₀ (slaughter day). All piglets were inoculated with 20 ml of *E. coli* culture 0141 K85 with 10⁹ CFU/ml on the day D₃ and D₄. The parameters analysed were, occurrence of diarrhea, faeces elimination and intestinal colonization with the *E. coli* sample inoculated, gastrointestinal content pH and small intestine histology. The addition of citric acid (TB) as well as CP reduction (TC) in the diet caused a benefic effect on the *E. coli* diarrhea. This effect was more evident with the CP reduction and addition of the acid simultaneously (TD). The diarrhea was prevented, probably, by the reduction of stomach and jejunum pH and by avoiding an exaggerated *E. coli* multiplication in the intestinal content.

INDEX TERMS: Pigs, post-weaning diarrhea, diet protein reduction, diet acidification.

SINOPSE. - Estudou-se experimentalmente a possibilidade de se prevenir a diarreia pós-desmama por *Escherichia coli* através da redução da proteína e/ou acidificação da dieta. Utilizaram-se 16 leitões Landrace SPF (Specific Pathogen Free) com 35 dias de idade (dia da desmama), distribuídos em quatro tratamentos (T): T_A - ração controle com 20% de PB; T_B - ração do T_A com 2% de ácido cítrico; T_C - ração com 16% PB mais lisina até nível de 0,9%; T_D - ração do T_C mais 2% do ácido cítrico. As rações foram formuladas com milho, farelo de soja, minerais e vitaminas. Os leitões receberam as dietas experimentais do D₀ (dia da desmama) até D₁₀ (dia do sacrifício). Todos os leitões foram inoculados com 20 ml de um cultivo de *E. coli* 0141 K85 contendo 10⁹ UFC/ml, nos dias D₃ e D₄. Os parâmetros analisados foram: ocorrência de diarreia, eliminação nas fezes e colonização intestinal da amostra de *E. coli* inoculada, pH do conteúdo gastrointestinal e histologia do intestino delgado. Tanto a adição do ácido cítrico (T_B) como a redução da PB (T_C) na dieta tiveram efeito benéfico na ocorrência da diarreia por *E. coli*. Este efeito mostrou-se mais evidente com a redução da PB e adição do ácido simultaneamente (T_D). A diarreia foi prevenida, possivelmente

pela redução do pH do estômago e jejuno e por evitar a multiplicação exagerada de *E. coli* no conteúdo intestinal.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO. Leitões, diarreia pós-desmama, redução de proteína, acidificação.

INTRODUÇÃO

A diarreia pós-desmama em leitões, associada a *Escherichia coli*, é um problema freqüente nos sistemas de produção intensiva, especialmente quando a idade de desmama é reduzida. Esta diarreia pode ser favorecida pela imaturidade do sistema digestivo dos leitões e pelas condições ambientais, nutricionais e de manejo a que eles são submetidos. Leitões, nestas condições, facilmente são agredidos por patógenos entéricos, incluindo-se bactérias, vírus e protozoários (Tzipori et al. 1980, Madec & Josse 1983) que desencadeiam um quadro de diarreia.

Na enterotoxemia pós-desmama por *E. coli*, vários fatores relacionados com a alimentação dos leitões, podem influenciar a freqüência e severidade da diarreia (Prohászka & Baron 1980, Bertschinger et al. 1983, Miller et al. 1983, Byerne & Hall 1984). Rações com alto teor de proteína bruta (21%) desempenham papel preponderante

¹ Aceito para publicação em 24 de fevereiro de 1989.

² Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves (CNPSA), Embrapa, Caixa Postal D-3, Concórdia, Santa Catarina 89700.

no estabelecimento do quadro de diarreia pós-desmama por *E. coli* (Proháská & Baron 1980). Neste trabalho, testou-se experimentalmente a acidificação da dieta e/ou a redução do nível de proteína bruta da ração, como alternativa para prevenir a diarreia pós-desmama causada por *E. coli*.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 16 leitões da raça Landrace com idade média de 35 dias (idade da desmama), oriundos de um rebanho SPF, alojados em uma instalação composta de uma sala contendo quatro baias. Os leitões foram examinados antes da experimentação, para verificação da população de coliformes nas fezes; eles encontravam-se em bom estado de saúde.

Tratamentos

De acordo com peso, sexo e parentesco, os leitões foram distribuídos nos seguintes tratamentos:

A – ração controle com 20% de proteína bruta (PB);

B – ração A adicionada de 2% de ácido cítrico;

C – ração com 16% de PB, adicionada de L-lisina HCL, até o nível mínimo de 0,90%;

D – ração C adicionada de 2% de ácido cítrico.

As composições das dietas testadas são apresentadas no Quadro 1. Os leitões receberam as rações experimentais à vontade a partir do dia da desmama (D₀), por dez dias após (D₁₀), quando foram sacrificados para exames complementares.

Quadro 1. Composição percentual, proximal, de lisina, cálcio e fósforo e energética das rações experimentais

Ingredientes	Tratamentos			
	A	B	C	D
Milho	60,09	60,09	70,84	70,84
Farelo de soja	34,43	34,43	23,33	23,33
Fosfato bicálcico	1,15	1,15	1,41	1,41
Calcário	1,43	1,43	1,33	1,33
Sal comum	0,40	0,40	0,40	0,40
Mistura vitamínica	0,30	0,30	0,30	0,30
Mistura mineral	0,20	0,20	0,20	0,20
Amido	1,00	–	1,00	–
Sabugo de milho	1,00	–	1,00	–
L-lisina – HCl	–	–	0,19	0,19
Ácido cítrico	–	2,00	–	2,00
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
<i>Composição</i>				
Proteína bruta (%)	20,07	20,07	16,01	16,01
Lisina (%)	1,09	1,09	0,96	0,96
Cálcio (%)	0,80	0,80	0,80	0,80
Fósforo (%)	0,60	0,60	0,60	0,60
Energia digestível (kcal/kg)	3.303	3.265	3.293	3.255

Inoculação

Foi usada, como inóculo, uma amostra de *Escherichia coli* 0141 K85, isolada de casos clínicos de diarreia pós-desmama, hemolítica em agár-sangue de carneiro e resistente à tetraciclina. Esta amostra foi cultivada em Tryptic Soy Broth (TSB) por 18 horas a 37°C e o cultivo padronizado em espectrofotômetro para conter aproximadamente 10⁹ UFC/ml. Os leitões foram inoculados no 3º e 4º dias pós-desmame, por via oral, com 20ml do cultivo.

Parâmetros analisados

a) pH das rações da seguinte maneira: 20 g da dieta foram suspensas em 30 ml de água, formando-se uma massa homogênea. Os sólidos insolúveis foram agitados, por barra magnética e agitador elétrico, no momento em que procedeu-se a leitura do pH em um potenciômetro. Para cada dieta fez-se três repetições tomando-se a média como pH final.

b) Capacidade de ligação ácida das rações: suspenderam-se 5 g da dieta em 50 ml de HCl 0,1N. A suspensão foi incubada a 37°C por 1 hora sob freqüente agitação. Após, 10 ml desta suspensão (contendo 1 g de alimento) foi titulada com NaOH, 0,1N até pH 3,0. A subtração da quantidade de ml de NaOH 0,1N usada para titulação dos 10 ml, correspondeu ao volume em mililitros de HCl requerido para ótima digestão gástrica (pH 3,0) de 1 g de alimento. A capacidade de ligação ácida das dietas foi taxada pela quantidade de HCl 1,0N ligada por quilograma de alimento, expressa em meq/kg.

c) Avaliação clínica diária dos leitões, quanto a consistência das fezes, seguindo-se à seguinte classificação: firmes, pastosas e líquidas.

d) pH do conteúdo do estômago, jejuno médio, fêo e ceco, verificado através de potenciômetro.

e) Colonização intestinal da amostra de *E. coli* inoculada. "Swabs" retais foram tomados dos animais no 5º, 7º e 9º dias pós-desmama, e dos conteúdos de duodeno, jejuno e fêo, por ocasião da necrópsia. Todos os "swabs" foram semeados diretamente em ágar sangue e ágar MacKonkey, contendo tetraciclina. As colônias hemolíticas foram submetidas a sorologia em lâmina com o antisoro da amostra inoculada 0141 K85.

f) Contagem do número aproximado de *E. coli* do conteúdo do fêo, considerando-se apenas a amostra 0141 K85. Do conteúdo fez-se diluições seriadas até 10⁻⁷ e de cada diluição, 0,1ml foi semeado em ágar sangue com tetraciclina. A contagem das colônias foi feita após 24 horas de incubação a 37°C. As colônias hemolíticas foram submetidas a sorologia em lâmina com o antisoro da amostra inoculada 0141 K85.

g) Avaliação histológica de fragmentos do duodeno, jejuno e fêo conforme procedimento de rotina, mas usando-se o líquido de Bouin como fixador.

RESULTADOS

A adição de 2% de ácido cítrico na dieta (TB) ou a redução do nível de PB de 20% para 16% (TC) provocaram uma redução do pH e da quantidade de HCl requerido para digestão "in vitro". Este efeito foi mais acentuado na dieta do TD com a redução da PB e da adição do ácido (Quadro 2).

Quadro 2. pH e capacidade de ligação ácida das dietas^a

Tratamentos	pH das dietas	HCl requerido para digestão "in vitro" (Meq/kg de dieta)
A	5,94	644
B	4,41	550
C	5,73	575
D	3,99	464

^a Resultados médios de três análises.

Quando a ocorrência de diarreia nos leitões verificou-se que todos aqueles do tratamento A desenvolveram diarreia, com duração média de 2,5 dias. Destes, dois ti-

Quadro 3. Exames bacteriológicos^a e clínicos dos leitões

Identificação dos animais - Tratamentos	"Swabs" retais				Necropsia				Nº de dias com diarreia
	Antes da inoculação	2 dias pi	4 dias pi	6 dias pi	Duodeno	Jejuno	Íleo	<i>E. coli</i> no conteúdo do fêo log ₁₀ /ml	
1165-A	-	+	+	+	-	-	+	6,14	2
1186-A	-	+	+	+	-	-	+	6,07	1
1212-A	-	-	+	+	+	+	+	8,44	2
1182-A	-	-	-	+	+	+	-	8,34	3
1175-B	-	+	+	+	-	+	+	9,46	0
1193-B	-	+	-	+	-	-	+	6,86	0
1197-B	-	+	+	+	-	-	-	<3,00	1
1215-B	-	-	+	+	-	-	-	<3,00	0
1169-C	-	+	+	-	-	-	-	<3,00	0
1188-C	-	+	+	+	+	+	+	7,07	1
1195-C	-	+	+	-	+	-	+	7,83	0
1213-C	-	-	+	+	+	+	+	5,95	0
1167-D	-	+	+	+	-	-	+	<3,00	0
1194-D	-	+	+	+	-	-	-	4,47	0
1200-D	-	+	+	-	-	-	-	<3,00	0
1179-D	-	-	-	-	-	-	-	5,81	0

^a Considerou-se apenas a amostra inoculada 0141 K85.

veram severa diarreia com desidratação, sendo que um morreu no 9º dia pós-inoculado (pi) e o outro encontrava-se em estado agônico, no dia do sacrifício. Nos outros tratamentos, apenas um leitão do grupo B e um do grupo C tiveram diarreia em apenas um dia, recuperando-se espontaneamente. Nenhum leitão do tratamento D desenvolveu diarreia.

No Quadro 3 são sumarizados os resultados obtidos com os exames bacteriológicos e clínicos. Todos os leitões, exceto um do tratamento D, eliminaram *Escherichia coli* 0141 K85 nas fezes, entre 2 a 6 dias pi. Após a necropsia, esta bactéria foi reisolada dos leitões dos tratamentos A e C, exceto em um, principalmente a nível de fêo. Porém, nos leitões dos tratamentos B e D houve pouca colonização intestinal, uma vez que apenas dois animais do TB e um do TD foram positivos no fêo, ou jejuno e nenhum no duodeno. Esta mesma tendência se repetiu na população de *E. coli* 0141 K85 no conteúdo do fêo, de maneira que os leitões do tratamento A tiveram uma quantidade maior de *E. coli*, seguidos dos leitões dos tratamentos C, B e D.

Com relação ao pH do conteúdo intestinal verificou-se uma acidez estomacal média maior nos leitões dos tratamentos C e D em relação aos dos tratamentos A e B, embora não tenha ocorrido diferença estatística entre eles a um nível de 5% de probabilidade.

O pH do conteúdo do jejuno foi significativamente ($P < 0,05$) menor nos leitões dos TC e TD em relação aos controles (TA). O pH do fêo não mostrou diferenças significativas entre os tratamentos, embora tenha sido levemente mais ácido para os tratamentos T_B, T_C e T_D em relação ao controle (TA). O pH do ceco comportou-se de maneira inversa, sendo mais baixo no tratamento A e mais elevado no tratamento D, entretanto sem mostrar diferenças estatísticas entre eles (Quadro 4). Estes resultados podem ser melhor visualizados na Fig. 1.

No exame histológico do intestino delgado, alterações

VALORES DE pH

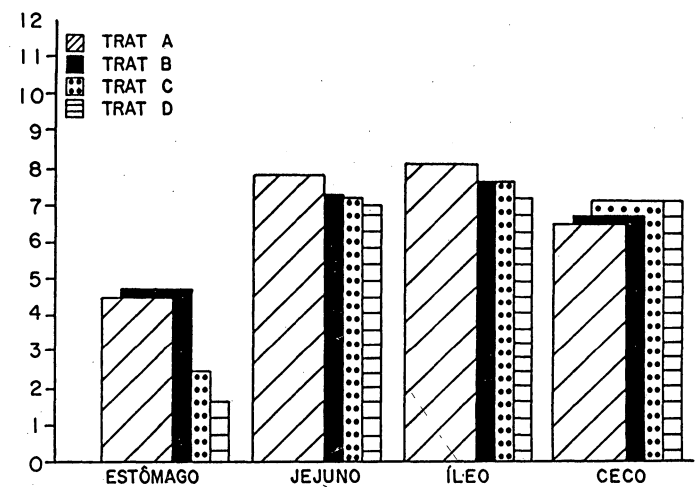


Fig. 1. Variação do pH do conteúdo gástrico-intestinal nos vários tratamentos.

Quadro 4. pH do conteúdo gastrointestinal

Tratamento	pH			
	Estômago	Jejuno	Íleo	Ceco
A	4,500 ^a	7,875 ^a	8,125 ^a	6,500 ^a
B	4,750 ^a	7,375 ^{ab}	7,625 ^a	6,750 ^a
C	2,500 ^a	7,250 ^b	7,625 ^a	7,125 ^a
D	1,625 ^a	7,000 ^b	7,250 ^a	7,125 ^a
C.V. (%)	52,46	4,15	7,36	6,12

^{ab} Médias com mesma letra não são significativamente diferentes a um nível de probabilidade de 5%.

importantes foram observadas apenas nos leitões do tratamento A em nível de jejuno e fêo. Estas alterações foram de enterite catarral com hiperplasia das criptas e presença de bastonetes gram negativos aderidos às células epiteliais. Nos leitões dos tratamentos B, C e D não foram encontradas alterações histológicas intestinais.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A dieta fornecida aos leitões, no período logo após a desmama, influenciou a ocorrência e severidade da diarreia por *Escherichia coli*, fato também verificado em outros trabalhos (Tzipori et al. 1980, Bertschinger et al. 1983). Leitões desmamados com menos de 6 semanas de idade, possuem o sistema digestivo ainda imaturo para digerir rações sólidas com altos níveis de proteína de origem vegetal, como os do farelo de soja. Rações formuladas a base de milho e farelo de soja predispõem os leitões, nesta idade, a desenvolverem diarreia por *E. coli* (Armstrong & Cline 1977). Lindemann et al. (1986) e Omsley et al. (1986), observaram um aumento significativo de proteases gástricas e enzimas pancreáticas, como a tripsina e quimotripsina, no período de 5 a 6 semanas de idade. Além disso, Lindemann et al. (1986) relatam a existência de uma insuficiente capacidade enzimática para digestão de proteína, relacionada como a própria desmama dos leitões. Neste experimento foram utilizados leitões desmamados com 35 dias de idade, teoricamente com capacidade reduzida para digerir alimentos altamente protéicos. A ração controle com 20% de PB e sem ácido cítrico demonstrou ter uma alta capacidade de ligação ácida, em relação às outras dietas experimentais acidificadas ou com menor nível de PB (16%). Isto talvez possa explicar a elevação do pH do estômago e jejuno nos leitões controles do TA. Prohászka & Baron (1980) afirmaram que um excesso de proteína no estômago, associado à imaturidade do sistema digestivo do leitão jovem, induz uma elevação prolongada do pH gástrico acima de 3,0, o que, conseqüentemente, facilita a proliferação exagerada de *E. coli*. Isto parece ter ocorrido também neste experimento, pois há evidência de que o pH gástrico foi influenciado mais pelo teor de PB, do que pelo pH da dieta, uma vez que os leitões dos tratamentos A e B apresentam pH gástrico médio acima de 3,0, enquanto que os dos TC e TD tiveram o pH inferior a 3,0 acompanhado de uma quantidade menor de *E. coli* patogênica no conteúdo do íleo.

A ocorrência de diarreia foi influenciada, tanto pelo nível de PB, como pela adição do ácido cítrico na dieta, uma vez que tanto os leitões do TB, como os do TC e TD, foram menos afetados que aqueles testemunhas do TA. Outros autores têm demonstrado que dietas com baixos teores em nutrientes previnem a diarreia e a proliferação exagerada de *E. coli* enteropatogênica no intestino, mas também afetam significativamente o desenvolvimento dos leitões (Prohászka & Baron 1980, Bertschinger et al. 1980). Em testes à campo (Mores, dados não publicados) verificou-se que uma ração com 16% de PB, suplementada com lisina e fornecida aos leitões por um período de 14 dias após a desmama, realizada aos 35 dias de idade, não reduz o ganho de peso em comparação com dietas contendo 20% de PB.

Os melhores resultados, neste experimento, foram obtidos com a adição do ácido cítrico na dieta com 16% de

PB (TB). Esta dieta reduziu o pH do conteúdo do estômago e jejuno e evitou a proliferação exagerada de *E. coli* no intestino delgado, o que pode explicar a não ocorrência de diarreia nos leitões. Isto também foi observado por outros autores usando a acidificação da ração (Scipioni et al. 1978) ou da água de beber (Thomlinson & Lawrence 1981). Segundo eles, este efeito inibitório sobre a *E. coli* está relacionado com a redução do pH gástrico, fato também observado neste experimento. Além disso, o ácido cítrico pode melhorar a palatabilidade da dieta, aumentando o consumo de ração e o ganho de peso de leitões desmamados (Scipioni et al. 1978, Giesting & Easter 1985).

Conclui-se neste trabalho, que a dieta com 16% de PB, suplementada com lisina até um nível mínimo de 0,90% e adicionada com 2% de ácido cítrico, previniu a ocorrência da diarreia pós-desmama por *E. coli*, com desmama realizada aos 35 dias de idade. Porém, vale ressaltar que no campo a diarreia pós-desmame pode ser causada por outros agentes infecciosos, como o rotavírus (Lecce 1983), e pode ser influenciada por fatores ambientais e de manejo (Madec & Josse 1983).

REFERÊNCIAS

- Armstrong W.D. & Cline T.R. 1977. Effects of various nutrient levels and environmental temperatures on the incidence of colibacillary diarrhea in pigs: intestinal fistulation and titration studies. *J. Anim. Sci.* 45(5): 1042-1050.
- Bertschinger H.V., Jucker H., Pflirter H.P., & Pohlenz J. 1983. Role of nutrition in the pathogenesis of porcine *Escherichia coli* enterotoxemia. *Ann. Rech. Vét.* 14(4): 469-472.
- Byerne T.F. & Hall G.A. 1984. The effect of age and diet on the histological structure of the small intestine in post-weaned germ-free piglets. *Proc. 8th Int. Pig Vet. Soc. Congr., Bélgica*, p.238.
- Giesting D.W. & Easter R.A. 1985. Response of starter pigs to supplementation of corn-soybean meal diets with organic acids. *J. Anim. Sci.* 60(5): 1288-1294.
- Lecce J.G. 1983. Dietary regimen, rotavirus, and hemolytic enteropathogenic *Escherichia coli* in weaning diarrhea of pigs. *Ann. Rech. Vét.* 14(4): 463-468.
- Lindemann M.D., Cornelius S.G., El Kandelgy S.M., Moser R.L. & Pettigrew J.E. 1986. Effect of age, weaning and diet on digestive enzyme levels in the piglet. *J. Anim. Sci.* 62: 1298-1307.
- Madec F. & Josse J. 1983. Influence of environmental factors on the onset of digestive disorders of the weaned piglets. *Ann. Rech. Vét.* 14(4): 456-462.
- Miller B.M., Newby T.J., Stokes C.R., Hompson D. & Bourne F.J. 1983. The role of dietary antigen in the aetiology of post weaning diarrhea. *Ann. Rech. Vét.* 14(4): 487-492.
- Owsley W.F., Orr D.D. & Tribble L.F. 1986. Effect of age and diet on the development of the pancreas and the synthesis and secretion of pancreatic enzymes in the young pig. *J. Anim. Sci.* 63: 497-504.
- Prohászka L. & Baron F. 1980. The predisposing role of high dietary protein supplies in enteropathogenic *E. coli* infections of weaned pigs. *Zentralbl. Veterinaermed.* 27(3): 222-232.
- Scipioni R., Zaghini G. & Biavati B. 1978. Ricerce sull'impiego di-deite acidificate nello svezzamento precoce dei suinetti. *Zootec. Nut. Anim.* (4): 201-218.
- Thomlinson J.R. & Lawrence T.L.L. 1981. Dietary manipulation of gastric pH in the prophylaxis of enteric disease in weaned pigs: Some field observations. *Vet. Rec.* 109: 120-122.
- Tzipori S., Chandler D., Smith M., Making T. & Hensseser D. 1980. Factors contributing to post-weaning diarrhea in a large intensive piggery. *Aust. Vet. J.* 56(6):274-278.