

FABIANE BORELLI GRECCO

**INTOXICAÇÃO POR *Senecio* spp.: PADRÕES MORFOLÓGICOS
HEPÁTICOS EM BOVINOS E RESISTÊNCIA ADQUIRIDA EM OVINOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área de conhecimento: Patologia animal).

Orientadora: Dra. Ana Lucia Schild

Pelotas, 2009

Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

G789i Grecco, Fabiane Borelli

Intoxicação por *Senecio* spp. : padrões morfológicos hepáticos em bovinos e resistência adquirida em ovinos / Fabiane Borelli Grecco. - Pelotas, 2009.
74f.

Tese (Doutorado em Patologia Animal) –Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Faculdade de Veterinária. Universidade Federal de Pelotas. - Pelotas, 2009, Ana Lucia Schild, Orientador.

1. *Senecio* spp. 2. Plantas tóxicas 3. Bovinos 4. Ovinos I
Schild, Ana Lucia (orientador) II .Título.
CDD 615.9

FABIANE BORELLI GRECCO

**INTOXICAÇÃO POR *Senecio* spp.: PADRÕES MORFOLÓGICOS
HEPÁTICOS EM BOVINOS E RESISTÊNCIA ADQUIRIDA EM OVINOS**

Tese apresentada para obtenção do grau de
Doutor em Ciências. Programa de Pós-
Graduação em Medicina Veterinária.
Universidade Federal de Pelotas
Área de concentração: Patologia Animal
Orientadora: Dra. Ana Lucia Schild

Data da aprovação. Pelotas-RS: 08/06/2009

Banca examinadora

Nome: Ana Lucia Schild (Presidente)
Titulação: Doutora
Instituição: Universidade Federal de Pelotas

Nome: Claudio Severo Lombardo de Barros
Titulação: PhD
Instituição: Universidade Federal de Santa Maria

Nome: Margarida Buss Raffi
Titulação: Doutora
Instituição: Universidade Federal de Pelotas

Nome: Elisa Simone Viégas Sallis
Titulação: Doutora
Instituição: Universidade Federal de Pelotas

Nome: Daniela Isabel Brayer Pereira
Titulação: Doutora
Instituição: Universidade Federal de Pelotas

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a Deus, que por toda a minha vida vem mostrando que meus caminhos, por vezes ásperos e tortuosos, sempre se tornaram mais amenos pelas pessoas maravilhosas que apareceram em minha vida em todos os momentos da caminhada. Dentre essas pessoas em primeiro lugar agradeço pelos pais únicos e especiais que me deram a vida e que mesmo tendo partido cedo demais, continuaram se fazendo presentes de alguma maneira através de seus ensinamentos que levarei comigo para sempre.

Agradeço ao meu esposo Luís, companheiro da vida toda, e com o qual tive o maior presente que poderia receber: dois filhos lindos (Luísa e Eduardo) que hoje são minha razão maior de viver e para os quais sempre procurarei dar o melhor de mim em qualquer circunstância.

Aos meus familiares, em especial a minha madrinha Denamar, minha madrastra Romilda e minha sogra Maria, por terem sido a presença de mãe quando eu sentia falta de um colo.

Aos meus irmãos Flávia e Fábio com os quais tenho dividido ao longo da vida tantos momentos especiais como este.

A minha orientadora Dr. Ana Lucia Schild, por me mostrar que os projetos, apesar de executados com rapidez, não precisam perder qualidade desde que realizados com muito trabalho e dedicação, virtudes estas que ela possui e que permeiam sua vida. Muito obrigado pelo exemplo e pela amizade.

As minhas amigas e futuras colegas Simone e Margarida por acreditarem em meus sonhos, mesmo quando não passavam de apenas meros sonhos. Obrigado pela confiança, amizade e incentivo de continuar lutando.

Aos amigos, Cauê, Pedro, Sérgio, Pablo e Luciano que foram imprescindíveis para a realização desse trabalho, sem os quais provavelmente este projeto não teria sido concluído.

Aos amigos-irmãos Letícia, Clairton e Nathalia, pela amizade e carinho com que sempre me trataram mesmo quando eu estava estressada.

Aos colegas e amigos da Pós-graduação da Patologia Thomas e Tainã por todas as palavras de incentivo.

Agradeço também aos amigos Silvia, Renata e Daiane por terem sido muito importantes, cada um de sua maneira, em muitos dos momentos desta caminhada.

Aos demais professores e técnicos do Departamento de Patologia e LRD agradeço por terem contribuído em me fazer ver que eu estava no caminho certo da jornada.

A Capes pela concessão da bolsa.

Muito obrigada!

RESUMO

GRECCO, Fabiane Borelli. **INTOXICAÇÃO POR *Senecio* spp.: PADRÕES MORFOLÓGICOS HEPÁTICOS EM BOVINOS E RESISTÊNCIA ADQUIRIDA EM OVINOS.** Tese (doutorado)- Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brasil.

Os objetivos do presente trabalho foram caracterizar os diferentes padrões morfológicos hepáticos da intoxicação por *Senecio* spp. em bovinos observados na área de influência do Laboratório Regional de Diagnóstico da Faculdade de Veterinária da UFPel (LRD) entre 2000-2008, fazendo uma relação com as variações climáticas ocorridas no período; descrever dois surtos da intoxicação por *Senecio* spp em ovinos; e determinar se doses repetidas e não tóxicas da planta induzem a resistência de ovinos à intoxicação por *Senecio brasiliensis*. Para tanto, este trabalho foi dividido em duas partes sendo que na primeira foram analisadas as lesões macroscópicas e histológicas dos fígados de bovinos mortos pela intoxicação que foram necropsiados e/ou tiveram órgãos remetidos ao LRD, as quais foram agrupadas em sete diferentes padrões morfológicos. Foram determinados os dados da prevalência dos surtos durante este período e as variações climáticas referentes à precipitação pluviométrica e temperatura média nas diferentes estações do ano. Na segunda parte do trabalho foram descritos dois surtos da intoxicação por *Senecio* spp. em ovinos. Para determinar se doses não tóxicas da planta verde induzem a resistência em ovinos inicialmente foi determinada a dose tóxica capaz de induzir intoxicação aguda nesta espécie animal. Foram administradas 60, 80, 90 e 100g/kg de peso corporal (pc) a três ovinos. As doses que causaram a morte dos animais foram divididas em duas, cinco e 10 doses administradas diariamente para determinar se os animais apresentavam lesões hepáticas crônicas, sendo que o ovino que recebeu 10g/kg de pc por 10 dias foi desafiado 45 dias após a última administração com a dose de 100g/kg de pc. Para induzir a resistência doses de 15g/kg de peso corporal foram administradas por 30 dias e doses de 30g/kg de pc foram administradas por 10 dias a três ovinos. Dois foram desafiados no dia seguinte ao final da administração da planta e um foi desafiado 15 dias após. Os resultados da análise macroscópica e histológica dos fígados dos bovinos demonstraram que os padrões mais frequentemente encontrados são aqueles caracterizados pela presença e fibrose difusa e presença de nódulos regenerativos, embora nos casos ocorridos entre 2007 e 2008 padrões de lesão com menor quantidade de fibrose e 2 casos de lesão subaguda tenham sido observados. Nos surtos espontâneos de intoxicação por *Senecio* spp. em ovinos foi observada icterícia, fotossensibilização, perda de peso e morte entre quatro dias e um mês e as lesões macroscópicas caracterizaram-se por icterícia discreta e generalizada e fígado amarelado e firme ou palidez da carcaça, ascite, edema de mesentério e fígado escuro e firme com nódulos esbranquiçados de 1-5 mm de diâmetro tanto na superfície capsular como ao corte. Microscopicamente, as lesões hepáticas eram semelhantes em todos os ovinos afetados e caracterizadas por megalocitose, fibrose periportal, necrose individual e aleatória de hepatócitos e hiperplasia acentuada das células dos ductos biliares. Os resultados da intoxicação experimental demonstraram que doses acima de 90g/kg de pc são capazes de produzir intoxicação aguda e que a dose de 100g/kg de pc fracionada em 10 doses de 10g/kg de pc não induzem resistência à intoxicação nesta espécie animal. Foi demonstrado que doses de 15 g/kg de pc por 30

dias e 30g/kg de pc por 10 dias induzem resistência nos ovinos quando os mesmos são desafiados imediatamente após o término do experimento e que se o desafio é realizado 15 dias após o final do experimento os animais perdem a resistência.

Palavras chave: *Senecio* spp., epidemiologia, plantas tóxicas, bovinos, ovinos

ABSTRACT

GRECCO, Fabiane Borelli. **INTOXICATION BY *Senecio* spp.: HEPATIC MORPHOLOGIC PATTERNS IN CATTLE AND AQUIRED RESISTANCE IN SHEEP.** Dsc. Thesis- Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brazil.

This study aim to characterize liver morphological patterns of the intoxication by *Senecio* spp. observed in cattle in Southern Rio Grande do Sul State, Brazil between 2000-2008 and to test the acquired resistance in sheep to *Senecio brasiliensis* poisoning. The patterns observed were correlated with climate changes occurred in the period. Two outbreaks *Senecio* spp. In sheep were described. It was tested if repeated doses of *S. brasiliensis* induce resistance to the intoxication in sheep. The macroscopic and histological lesions of cattle dead by *Senecio* spp. toxicosis submitted to Regional Diagnostic Laboratory of Pelotas University were analyzed. The lesions were classified in seven different patterns. The outbreaks prevalence and climate changes concerning accumulated rain and temperature mean in different seasons of year were analyzed. To determine if repeated doses of *S. brasiliensis* induce resistance to the intoxication in sheep, doses that cause acute intoxication was determined. The green plant was administered by gavage to 3 sheep in doses of 60, 80, 90 and 100 g/kg of body weight (bw). The doses (100g/kg of bw) that caused acute poisoning were divided in 2, 5 and 10 doses and administered daily in 2, 5 and 10 days to observe if chronic lesion would develop. Sheep that received 10g/kg of bw was challenged with 100g/kg of bw after 45 days the last doses of 10g. Doses of 15 g/kg of bw were administered by gavage for 30 days and 10 g/kg of bw for 10 days to three sheep. Two of them were challenged 24 hours after the last doses of 30g/kg of bw. One sheep was challenged 15 days after the last doses of 30g/kg of bw. The results of macroscopic and histological analyze of liver showed that the diffuse liver fibrosis and nodular regeneration were the most common lesions induced by *Senecio* spp. intoxication in cattle. Although between 2007 and 2008 the pattern with little fibrosis and histological subacute lesion had been observed. In outbreaks of spontaneous *Senecio* spp. poisoning in sheep jaundice, photodermatitis, progressive emaciation and death in 4 to 30 days were observed. Macroscopic lesion were characterized by jaundice, yellowish liver, mesentery edema, ascitis, alternatively dark and firm liver with numerous small well-circumscribed nodules measuring 1-5mm in diameter in the cut and capsular surface. Microscopically the hepatic lesions were similar in all affected sheep and characterized by hepatomegalocytosis, periportal fibrosis, hepatocytes necrosis and biliary ductal proliferation. The results of experimental intoxication showed that doses up 90g/kg of bw cause acute intoxication and the doses of 100g/kg of bw divided in 10 doses do not induces resistance to *Senecio brasiliensis* poisoning in sheep. It was demonstrated that 15g/kg of bw for 30 days and 30g/kg of bw for 10 days induce resistance to *Senecio brasiliensis* poisoning if the animals were challenged with 100g/kg of bw immediately after last dose of 30g/kg of bw and lost resistance after 15 days.

Key words: *Senecio* spp., epidemiology, poisonous plants, cattle, sheep

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Percentuais dos surtos de intoxicação por <i>Senecio</i> spp. em bovinos distribuídos entre 2000-2008.....	38
Figura 2.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos. A. Fígado esbranquiçado e com nódulos escuros de tamanhos variados. B. Fígado com coloração avermelhada e com nodulações mais claras. (Padrão macroscópico 1).....	39
Figura 3.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos. Fígado com superfície de corte homogênea e de coloração clara. (Padrão macroscópico 2).....	40
Figura 4.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos. Fígado com estriações esbranquiçadas na superfície de corte (Padrão macroscópico 3).....	40
Figura 5.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos. Fígado pontilhado por pequenas áreas avermelhadas intercaladas por áreas mais claras. (Padrão macroscópico 4).....	41
Figura 6.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos. A. Fígado escuro com acentuação do padrão lobular e áreas de hemorragia. B. Fígado escuro com acentuação do padrão lobular (Padrão macroscópico 5).....	42
Figura 7.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos. A. Fígado levemente amarelado, com acentuação do padrão lobular ou com áreas claras intercaladas com áreas escuras. (Padrão macroscópico 6).....	43

Figura 8.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos. Fígado alaranjado, com superfície de corte irregular formando um padrão lobado (Padrão macroscópico 7).....	43
Figura 9.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos. Nódulo regenerativo circundado por tecido conjuntivo fibroso (Padrão histológico 1). (HE, obj. 10x).....	44
Figura 10.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos Tecido conjuntivo fibroso circundando nódulo regenerativo. (Padrão microscópico 1) (TM, obj. 10x).....	44
Figura 11.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos Fibrose difusa, grupos de hepatócitos dispersos e proliferação biliar (Padrão histológico 2) (HE, obj. 20).....	45
Figura 12.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos Fibrose difusa. (Padrão histológico 2) (TM, obj. 20x).....	45
Figura 13.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos. Fibrose em ponte e proliferação de ductos biliares. (Padrão microscópico 3) (HE, obj. 10x).....	46
Figura 14.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos. Fibrose em ponte (Padrão microscópico 3). (TM, obj. 10x).....	46
Figura 15.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos. Megalocitose, discreta proliferação de ductos e fibrose inicial (Padrão histológico 4). (HE, obj. 10x).....	47
Figura 16.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos. Megalocitose e fibrose inicial (Padrão histológico 4) (HE, obj. 20).....	47
Figura 17.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos. Fibrose discreta (Padrão microscópico 4). (TM, obj. 10x).....	48
Figura 18.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos. Proliferação de ductos biliares e fibrose moderada. (Padrão histológico 5.) (HE obj. 20 x).....	49
Figura 19.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos Fibrose	

	Moderada. Padrão histológico 5 (TM Obj. 10x).....	49
Figura 20.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos. Áreas de hemorragia, megalocitose e fibrose discreta (Padrão histológico 6).(HE, obj. 20x).....	50
Figura 21.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos. Fibrose moderada (Padrão histológico 6). (T.M, obj. 10x).....	50
Figura 22.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos. Grandes nódulos regenerativos divididos por finos cordões de tecido conjuntivo e acentuada proliferação de ductos biliares (Padrão histológico7). (HE, obj. 10x).....	51
Figura 23.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em bovinos. Grandes nódulos regenerativos divididos por finos cordões de tecido conjuntivo (Padrão histológico 7).(TM, obj. 10x).....	51
Figura 24.	Precipitação pluviométrica acumulada nos meses de verão dos últimos 30 anos nos municípios da área de influência do LRD.....	52
Figura 25.	Precipitação pluviométrica acumulada nos meses de verão nos últimos 30 anos nos municípios de influência do LRD.....	52
Figura 26.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em ovinos no município de Bagé. (propriedade A).Observa-se área severamente invadida por <i>Senecio brasiliensis</i> e com escassez de forragem.....	53
Figura 27.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em ovinos. Há lesões de fotossensibilização nas orelhas (Ovino do surto da Propriedade B).....	53
Figura 28.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em ovinos. Múltiplos nódulos irregulares de diversos tamanhos na superfície capsular (A) e na superfície de corte (B) em ovino da Propriedade B.....	54
Figura 29.	Intoxicação espontânea por <i>Senecio</i> spp. em ovinos..Há megalocitose, pseudo-inclusão em hepatócito e proliferação de ductos no fígado (Ovino da Propriedade B).....	55

Figura 30.	Intoxicação experimental por <i>Senecio brasiliensis</i> em ovinos. Ovino 2. Biópsia hepática aos 90 dias. Há proliferação de células de ductos e fibrose periportal discretas. (HE, obj. 40x)O conteúdo do ducto biliar é um artefato.....	55
Figura 31.	Intoxicação experimental por <i>Senecio brasiliensis</i> em ovinos. Ovino 2. Biópsia hepática aos 120 dias. Há proliferação de células de ductos e fibrose periportal moderadas. (HE, obj. 40x).....	56
Figura 32.	Intoxicação experimental aguda por <i>Senecio brasiliensis</i> em ovinos.. Ovino 4. Animal deprimido, em decúbito esternal 22 horas após administração da planta.....	56
Figura 33.	Intoxicação experimental aguda por <i>Senecio brasiliensis</i> em ovinos. Ovino 4. Observa-se decúbito lateral e movimentos de pedalagem 24 horas após administração da planta.....	57
Figura 34.	Intoxicação experimental aguda por <i>Senecio brasiliensis</i> em ovinos. Ovino 3. Observam-se ascite e petéquias no mesentério.....	57
Figura 35.	Intoxicação experimental aguda por <i>Senecio brasiliensis</i> em ovinos. Ovino 3 Há hemorragias no mesentério e o fígado está escuro.....	58
Figura 36.	Intoxicação experimental aguda por <i>Senecio brasiliensis</i> em ovinos. Ovino 5. Observa-se edema acentuado da parede do abomaso.....	58
Figura 37.	Intoxicação experimental aguda por <i>Senecio brasiliensis</i> em ovinos. . Ovino 4. Fígado com acentuação do padrão lobular na superfície capsular.....	59
Figura 38.	Intoxicação experimental aguda por <i>Senecio brasiliensis</i> em ovinos. Ovino 4. Fígado com acentuação do padrão lobular na superfície de corte	59
Figura 39.	Intoxicação experimental aguda por <i>Senecio brasiliensis</i> em ovinos. Ovino 3. Necrose hemorrágica centrolobular . (HE, obj. 20x).....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Número e peso dos ovinos experimentais, dose de <i>Senecio brasiliensis</i> administrada, número de doses, intervalo entre a administração da planta e momento da realização das biópsias hepáticas.....	28
Tabela 2.	Surtos de intoxicação por <i>Senecio</i> spp. em bovinos distribuídos mensalmente entre 2000-2008.....	36
Tabela 3.	Precipitação pluviométrica em mm nas diferentes estações do ano entre 2000-2008.....	36
Tabela 4.	Temperatura média (°C) nas diferentes estações do ano entre 2000-2008.....	36
Tabela 5.	Número dos ovinos experimentais, dose da planta administrada, número de doses, presença de lesões e desfecho.....	37

SUMÁRIO

RESUMO.....	5
ABSTRACT.....	7
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 INTOXICAÇÃO POR <i>Senecio</i> spp.....	15
2.2 PRINCÍPIO ATIVO E PATOGENIA	16
2.3 INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA E EXPERIMENTAL.....	19
2.4 EPIDEMIOLOGIA DA INTOXICAÇÃO POR <i>Senecio</i> spp.....	19
2.5 PARTES E QUANTIDADES TÓXICAS DA PLANTA.....	20
2.6 EVOLUÇÃO E QUADRO CLÍNICO-PATOLÓGICO.....	20
2.7 CONTROLE DA INTOXICAÇÃO POR <i>Senecio</i> spp. PELA UTILIZAÇÃO DE OVINOS.....	22
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1 PADRÕES MORFOLÓGICOS HEPATICOS E EPIDEMIOLOGIA DOS SURTOS DE SENEIOSE EM BOVINOS NO PERÍODO ENTRE 2000- 2008.....	24
3.2 VARIAÇÕES CLIMÁTICAS NO PERÍODO DE 2000-2008 NA ÁREA DE INFLUÊNCIA DO LRD.....	24
3.3 INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA EM OVINOS.....	25
3.4 INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL EM OVINOS.....	25
3.4.1 EXPERIMENTO 1- DETERMINAÇÃO DA DOSE TÓXICA QUE CAUSA INTOXICAÇÃO AGUDA.....	25
3.4.2 EXPERIMENTO 2- FRACIONAMENTO DA DOSE TÓXICA QUE CAUSA INTOXICAÇÃO AGUDA.....	26
3.4.3 EXPERIMENTO 3- INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A INTOXICAÇÃO POR <i>Senecio</i> spp.....	26
4. RESULTADOS.....	29
4.1. PADRÕES MORFOLÓGICOS HEPATICOS E EPIDEMIOLOGIA DOS SURTOS DE SENEIOSE EM BOVINOS NO PERÍODO ENTRE 2000- 2008.....	29

4.2 VARIAÇÕES CLIMÁTICAS NO PERÍODO DE 2000-2008 NA ÁREA DE INFLUÊNCIA DO LRD.....	32
4.3 INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA EM OVINOS.....	32
4.3.1 EPIDEMIOLOGIA.....	32
4.3.2 SINAIS CLÍNICOS.....	33
4.3.3 PATOLOGIA.....	33
4.4 INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL EM OVINOS.....	34
4.4.1 EXPERIMENTO 1- DETERMINAÇÃO DA DOSE TÓXICA QUE CAUSA INTOXICAÇÃO AGUDA.....	34
4.4.2 EXPERIMENTO 2- FRACIONAMENTO DA DOSE TÓXICA QUE CAUSA INTOXICAÇÃO AGUDA.....	34
4.4.3 EXPERIMENTO 3- INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A INTOXICAÇÃO POR <i>Senecio</i> spp.....	35
5. DISCUSSÃO.....	61
6. CONCLUSÕES.....	66
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67

1. INTRODUÇÃO

As intoxicações por plantas no Brasil estão bem documentadas e as perdas econômicas dela decorrentes podem ser definidas em diretas e indiretas. Tem sido estimado que apenas a morte de animais no Rio Grande do Sul em consequência das intoxicações por plantas representa uma perda anual de US\$ 12,8 a 21 milhões (RIET-CORREA & MEDEIROS, 2001, RISSI et al. 2007). Esses valores, certamente são bem maiores, apesar de difíceis de estimar, se considerarmos nesse cálculo as perdas indiretas como o controle das plantas nas pastagens e as medidas de manejo necessárias para se evitar o consumo de plantas tóxicas pelos animais (RISSI et al. 2007).

No Rio Grande do Sul, 10% a 14% de todas as mortes de bovinos são atribuídas a intoxicações por plantas e em ovinos essa estimativa chega a 7% (RIET-CORREA & MEDEIROS, 2001). Neste contexto, *Senecio* spp. representa a planta tóxica mais importante do Rio Grande do Sul para bovinos, sendo sozinha responsável por 50% de todas as mortes por intoxicações no estado (RIET-CORREA & MEDEIROS, 2001, RISSI et al. 2007).

Senecio spp. são plantas da família Asteraceae, nativas em várias regiões do mundo e consideradas causadoras de uma enfermidade de caráter enzoótico em bovinos, com importante reflexo na produção animal mundial (SANTOS et al. 2008).

As condições em que a intoxicação ocorre em bovinos incluem particularidades tais como a ocorrência dos sinais clínicos vários meses após a ingestão da planta, mortes durante todo o ano e geralmente surtos ocorrem em propriedades em que não existem ovinos (RIET-CORREA et al. 1993).

Na área de influência do Laboratório Regional de Diagnóstico (LRD), surtos da intoxicação em bovinos são diagnosticados todos os anos e a maioria destes surtos tem caráter clássico, embora a partir de 2006 tenham ocorrido um aumento considerável da prevalência da intoxicação e alterações na epidemiologia com a observação de lesões histológicas subagudas e a ocorrência da doença em animais jovens, que normalmente não são a categoria mais afetada. No mesmo período foram diagnosticados dois surtos da intoxicação em ovinos.

Nesse contexto e dada à importância da intoxicação por *Senecio* spp. em ruminantes, este trabalho foi dividido em duas partes com os objetivos de: 1) caracterizar os diferentes padrões morfológicos hepáticos da intoxicação por *Senecio* spp. em bovinos observados na área de influência do Laboratório Regional de Diagnóstico da Faculdade de Veterinária da UFPel (LRD) entre 2000-2008, fazendo uma relação com as variações climáticas ocorridas no período; 2) descrever dois surtos da intoxicação por *Senecio* spp em ovinos e determinar se pequenas e repetidas doses da planta induzem a resistência de ovinos à intoxicação por *Senecio brasiliensis*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Intoxicação por *Senecio* spp.

No Rio Grande do Sul, 10% a 14% de todas as mortes de bovinos são atribuídas a intoxicações por plantas e em ovinos essa estimativa chega a 7% (RIET-CORREA & MEDEIROS, 2001). No Brasil ocorrem pelo menos 35 espécies de plantas hepatotóxicas distribuídas em 16 gêneros que podem ser divididas em 3 grupos: plantas que causam necrose hepática aguda; plantas que causam fibrose hepática e plantas que causam fotossensibilização. Algumas delas têm princípio ativo conhecido, enquanto outras não têm determinadas as substâncias responsáveis pelo quadro clínico-patológico (RIET-CORREA et al., 2007a, SANTOS et al. 2008).

As plantas hepatotóxicas que provocam fibrose hepática pertencem a três famílias: família Boraginaceae (todos os gêneros, incluindo *Echium* e *Heliotropum*); família Asteraceae, gêneros *Senecio* e *Eupatorium*; e, família Leguminosae gênero *Crotalaria* (CHEEKE et al. 1988). Dentre estas famílias as plantas da família Asteraceae gênero *Senecio* são as mais importantes do ponto de vista econômico para produção animal no Rio Grande do Sul (RS) devido às perdas diretas e indiretas que podem acarretar na criação de bovinos (RIET-CORREA & MEDEIROS, 2001, RISSI et al. 2007, RIET-CORREA et al. 2007a).

Em todo o mundo, existem mais de 1200 espécies de *Senecio* descritas. Aproximadamente 25 delas têm sido comprovadas como tóxicas para animais domésticos ou para o homem (TOKARNIA et al. 2000). É provável que este número cresça em virtude de que alcaloides tóxicos têm sido isolados ainda de outras espécies deste gênero (KINGSBURY 1964). No Brasil existem aproximadamente 128 espécies de *Senecio* conhecidas com distribuição geográfica na região centro-sul do país. A espécie mais freqüente nessa

região, e também no Uruguai e Argentina, é *S. brasiliensis*, conhecida pelos nomes de maria-mole, flor-das-almas, tasneirinha, entre outros (RIET-CORREA et al.1993). No Rio Grande do Sul e Uruguai as espécies tóxicas de *Senecio* são plantas anuais, sub-arbustivas, que florescem a partir do mês de outubro e apresentam inflorescências amarelas, com exceção de *S. tweediei*, cujas inflorescências são brancas. Comportam-se como invasoras de culturas e pastagens nativas (RIET-CORREA et al.1993).

2.2 Princípio ativo e patogenia

As plantas do gênero *Senecio* possuem como princípio ativo os alcaloides pirrolizidínicos. Alcaloides pirrolizidínicos (APs) são compostos que contém nitrogênio, usualmente no anel heterocíclico e são geralmente substâncias básicas. Os núcleos dos APs contem de 2-5 anéis. A maioria é constituída por ésteres de dois aminoácidos, retrocenina e heliotridina e ocorrem em três grupos mono ésteres não cíclicos e di-ésteres cíclicos em ordem crescente de toxicidade. Para serem hepatotóxicos necessitam de ligação dupla 1,2 no núcleo pirrolizidínico e uma ramificação no grupamento éster (CHEEKE 1988).

Os pirrois causam danos irreversíveis ao fígado e lesam as células hepáticas por inibição da mitose (efeito alquilante) causando megalocitose, necrose e redução no número de hepatócitos que são substituídos por tecido fibroso, e em virtude disso, levam ao aparecimento do quadro clínico e morte decorrente à disfunção hepática (SANTOS et al. 2008).

Parte dos pirrois produzidos no fígado escapa para a circulação geral causando lesões em outros órgãos como nefrose e pneumonia intersticial (RADOSTITIS et al. 2002). No fígado a agressão pode afetar tanto as células hepáticas parenquimatosas (hepatócitos), células não-parenquimatosas (células de Kupffer, células Ito, células endoteliais, células de ductos biliares e linfócitos associados ao fígado) e a matriz extracelular hepática (MEC) (TORRES & COELHO 2008). Nos hepatócitos, os alcaloides pirrolizidínicos induzem um leve estímulo regenerativo, porém concomitantemente ocorre um efeito antimitótico com síntese contínua de nucleoproteínas levando ao aumento de tamanho e volume destas células, com metabolismo subnormal

culminando com a morte celular e substituição por tecido conjuntivo fibroso (CULLEN 2007).

De acordo com Cullen (2007) as lesões aos hepatócitos provocadas por diversas substâncias tóxicas podem ser reversíveis ou irreversíveis dependendo do grau de lesão que causam na membrana basal das células hepáticas. No caso de hepatócitos em megalocitose, estas células fatalmente morrerão e a tendência fisiológica normal é a substituição por tecido conjuntivo fibroso, o que evidencia um processo de evolução mais crônica, porém se os agentes químicos agressores estiverem em quantidade elevada ou houver exposição contínua, as células hepáticas podem morrer em grande número e numa distribuição difusa, levando a insuficiência do órgão sem que ocorra tempo hábil para formação de fibrose para a reparação. Da mesma forma, lesões que afetem as células das vias biliares direta ou indiretamente podem induzir tanto a morte rápida destas células, bem como estimular a sua proliferação de uma maneira desordenada na tentativa de recobrar as suas funções normais (CHEEKE et al. 1988).

A matriz extracelular desempenha um papel importante em lesões hepáticas crônicas e tem sido estudada em modelos de intoxicação experimental (TORRES & COELHO 2008). Os principais componentes da matriz extracelular incluem polissacarídeos associados com proteínas como os proteoglicanos e proteínas fibrosas estruturais como o colágeno e elastina (CHEEKE et al. 1988, CULLEN 2007, TORRES & COELHO 2008).

A fibrose hepática de acordo com Cullen (2007) é o evento de reparação do parênquima hepático.

No fígado normal, os colágenos intersticiais (tipo I e III) concentram-se nos tratos portais e ao redor das veias centro-lobulares, com feixes eventuais no espaço de Disse. O colágeno reticulina que segue ao longo das laterais dos hepatócitos é composto de delicados filamentos de colágeno tipo IV no espaço de Disse. Na fibrose progressiva ou cirrose, os colágenos dos tipo I e III depositam-se no lóbulo, criando tratos septais delicados ou espessos dependendo da evolução da lesão (COTRAN et al. 2000). A principal fonte de excesso de colágeno na cirrose são as células Ito que residem no espaço de Disse. Embora funcionem normalmente como células armazenadoras de vitamina A e lipídios, são ativadas durante o desenvolvimento da fibrose e transformam-se

em células semelhantes à miofibroblastos. Esta transformação aumenta a resistência vascular dentro do parênquima hepático, pois a contração tônica destas células constri os canais vasculares sinusoidais. Através do processo de lesão e fibrose hepáticas, os hepatócitos remanescentes são estimulados a regenerar-se, e proliferam como nódulos esféricos dentro dos limites dos septos fibrosos (nódulos regenerativos). O resultado final é um fígado fibrótico nodular onde as células parenquimatosas estão circundadas por intensa formação de tecido conjuntivo estando incapacitadas de comunicação com outros hepatócitos e com as vias biliares próximas, tornando esta nova formação celular inútil do ponto de vista fisiológico (COTRAN et al. 2000) .

Diferenças entre as espécies animais no que se refere à suscetibilidade a intoxicação por APs são relatadas na literatura (HOOPER 1978). A resistência de algumas espécies é o resultado do balanço entre as reações de bioativação, desintoxicação e excreção dos alcaloides. Além desses fatores, a qualidade da dieta do animal aparentemente influencia no processo de detoxificação dos APs. Trabalhos experimentais em ratos demonstraram que altas concentrações de proteínas na dieta reduzem a toxicose dos alcalóides, em virtude de que aminoácidos como a glutatona, exercem importante papel na rota de detoxificação hepática dos alcalóides pirrolizidínicos (CHEEKE 2009).

Os bovinos e equinos são bastante suscetíveis à intoxicação, sendo 30-40 vezes mais sensíveis do que ovinos e caprinos (CRAIG et al. 1991). A diferença parece estar relacionada à capacidade do ovino em detoxificar os APs. A resistência dos ovinos é atribuída também a uma maior quantidade de microorganismos no rúmen, capazes de biotransformar os alcaloides com maior eficiência que os bovinos (HOOPER 1978). As diferentes respostas ou resistência individual dos animais aos APs podem refletir: 1) a detoxificação bacteriana no trato gastrointestinal; 2) a taxa de conversão dos APs a pirrois tóxicos no fígado; e, 3) a capacidade anti-oxidativa individual do animal. A quantidade de alcaloides ingerida é, também, importante. (CRAIG et al. 1991).

Alguns autores consideram que as diferenças no metabolismo hepático dos ovinos são mais importantes do que a flora microbiana do rúmen (SANTOS et al. 2008). Diferenças entre raças são também relatadas, experimentos

demonstram que ovinos da raça Merino são relativamente resistentes à intoxicação por *Echium plantagineum* comparados às outras raças (CHEEKE 1988).

2.3 Intoxicação espontânea e experimental

A intoxicação espontânea por espécies do gênero *Senecio* em bovinos vem sendo descrita no Brasil desde a década de 80 (TOKARNIA et al. 2000). No Rio Grande do Sul surtos foram relatados associados às espécies *S. brasiliensis*, *S. selloi*, *S. heterotrichius*, *S. cisplatinus*, *S. leptolobus*, *S. oxyphyllus* e *S. tweediei* (TOKARNIA et al. 1984, MÉNDEZ et al. 1987, BARROS et al. 1987, BARROS et al. 1992, KARAM et al. 2004).

Em equinos, a intoxicação espontânea por alcalóides pirrolizidínicos foi descrita em Santa Catarina e Rio Grande do Sul (GAVA & BARROS 1997) e na Paraíba (NOBRE et al. 2004 a).

Em ovinos, foram relatados surtos espontâneos no Rio Grande do Sul (ILHA et al. 2001; SCHILD et al. 2007). Existe ainda relato da intoxicação espontânea por *Senecio spp.* em suínos, que entretanto é muito rara (FORSYTH 1972).

Experimentalmente *Senecio brasiliensis*, *S. cisplatinus*, *S. heterotrichius*, *S. selloi*, *S. oxyphyllus* e *S. tweediei* foram comprovadamente tóxicos para bovinos (CARRILLO et al. 1976, TOKARNIA & DOBEREINER 1984, MÉNDEZ et al. 1987, DRIEMEIER & BARROS 1992).

A intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* foi realizada em ovinos (BARROS et al. 1989), em aves (MÉNDEZ et al. 1990) e em eqüinos (PILATI & BARROS 2007).

2.4 Epidemiologia da intoxicação por *Senecio spp.*

A ingestão de *Senecio spp.* no Rio Grande do Sul pelos bovinos ocorre principalmente entre maio e agosto, período no qual as plantas estão em brotação e quando a disponibilidade de forragem diminui consideravelmente (MÉNDEZ et al. 1987, BARROS et al. 1992). Bovinos muito famintos também ingerem a planta adulta. Ocasionalmente, têm ocorrido surtos de intoxicação

em bovinos pelo uso de feno ou silagem contaminado por *Senecio spp.* (BARROS et al. 1987, 1992, DRIEMEIER et al. 1991).

Freqüentemente os surtos da intoxicação ocorrem em propriedades onde não existem ovinos nas pastagens (RIET-CORREA et al. 1993).

De acordo com KINGSBURY 1964, as plantas do gênero *Senecio* não seriam palatáveis aos animais domésticos. Nas condições epidemiológicas do RS, os animais ingerem a planta em períodos de escassez de pastagens, portanto associado à condição de fome (MÉNDEZ et al. 1987,1993, BARROS et al. 1992).

Geralmente são afetados animais adultos, principalmente vacas por ser a categoria de animais que permanece maior tempo na propriedade (RIET-CORREA et al. 1993).

A morbidade da intoxicação por *Senecio spp.* em bovinos é variável. Em um trabalho de descrição de 15 surtos a taxa de morbidade média foi de 17% e a mortalidade foi de 100% (BARROS et al. 1992).

Em um estudo da epidemiologia de 24 surtos da intoxicação por *Senecio spp.* em bovinos na área de influência do Laboratório Regional de Diagnóstico no período de 1998 a 2000, os autores observaram que em 11 (45,83%) surtos os animais tinham até 3 anos de idade e, em 13 (54,16%), 3 anos ou mais. Em relação à época de ocorrência, 10 (41,66%) surtos ocorreram na primavera, 4 (16,66%) no verão, 5 (20,83%) no outono, e 5 (20,83%) no inverno. A morbidade foi estimada em 4,92% e a letalidade em 95,59% (KARAM et al 2004).

2.5 Partes e quantidade tóxicas da planta

Em relação a *S. brasiliensis*, todas as partes da planta são tóxicas, tanto verdes como dessecadas (TOKARNIA et al. 2000). No que se refere à variação de toxidez de acordo com a fase de desenvolvimento, as plantas jovens são mais tóxicas (KINSNBURY 1964), embora seja sugerido também que a maior concentração de alcaloides pirrolizidínicos ocorra na fase de floração da planta (COONOR 1977).

A dose tóxica de *S. brasiliensis* em trabalhos experimentais em bovinos variou de 0,6 a 5g/kg diárias administrados em um período de 1 a 8 meses

(TOKARNIA & DOBEREINER 1984). MÉNDEZ et al. (1990) reproduziram experimentalmente a intoxicação por *S. cisplatinus* com doses 22,5g/kg, com *S. heterotrichius* na dose de 180g/kg e *S. selloi* com doses de 45 -180 g/kg de planta dessecada.

2.6 Evolução e quadro clínico-patológico

Em bovinos o quadro clínico causado pela intoxicação por APs caracteriza-se por insuficiência hepática em consequência de lesões crônicas do fígado. Os sinais clínicos são variáveis, geralmente há encefalopatia hepática com apatia ou hiperexcitabilidade, agressividade, pressão da cabeça contra objetos, andar compulsivo ou em círculos, tenesmo, diarreia e, ocasionalmente, prolapso retal são característicos deste quadro. O curso clínico geralmente é de 24-96 horas. Alguns bovinos apresentam emagrecimento progressivo, com diarreia ou não, com um curso clínico que pode ser de vários meses, podendo observar-se sinais nervosos ou decúbito permanente antes da morte. Pode-se observar-se também ascite, fotossensibilização, icterícia e edema de membros e barbeta (TOKARNIA & DOBEREINER 1984, MÉNDEZ et al. 1987, BARROS et al. 1987, KARAM et al. 2004). Nos casos em que ocorre fotossensibilização, o que não é freqüente em bovinos, o curso clínico é mais prolongado que nos casos em que há encefalopatia hepática (KARAM et al. 2004).

Na necropsia de bovinos intoxicados, o fígado está firme, com superfície irregular e áreas brancas intercaladas com áreas vermelho-escuras e com aumento no padrão lobular. Há edema de mesentério e parede do abomaso, ascite, hidropericárdio e hidroperitônio. As lesões histológicas do fígado se caracterizam por fibrose, principalmente periportal, megalocitose e proliferação de células dos ductos biliares (TOKARNIA & DOBEREINER 1984, BARROS et al. 1987, MÉNDEZ et al. 1987, 1993, KARAM et al. 2004).

A ação hepatotóxica dos APs em ovinos pode provocar os seguintes quadros clínico-patológicos: 1) intoxicação aguda que está associada à ingestão de doses elevadas em curto período de tempo, provocando necrose hepática centro-lobular (KELLERMAN et al. 2005); 2) intoxicação crônica causada pelo consumo de grandes quantidades de planta em períodos

prolongados associado a fibrose difusa (BULL et al. 1968); e, 3) intoxicação crônica associada ao acúmulo excessivo de cobre no fígado devido às lesões hepáticas prévias (BULL et al. 1968, SEAMAN 1985). As manifestações clínicas decorrentes destes quadros podem ser variáveis dentro de um mesmo rebanho afetado pela intoxicação e podem incluir perda de peso, fotossensibilização, sinais nervosos, icterícia e hemoglobinúria (BULL et al. 1968, SEAMAN 1985, 1987, ILHA et al. 2001, SCHILD et al. 2007).

Na necropsia o fígado apresenta áreas avermelhadas entremeadas por áreas pálidas, firmes ao corte e superfície capsular irregular e espessada. A vesícula biliar esta distendida e observa-se ascite, edema de abomaso e do mesentério. Histologicamente observa-se fibrose periportal, proliferação de células epiteliais de ductos biliares, hepatomegalocitose e bilestase. No encéfalo observam-se microcavitações, principalmente na substância branca características de encefalopatia hepática (ILHA et al. 2001).

A intoxicação aguda por APs em ovinos foi descrita no Brasil causada pela ingestão de *Crotalaria retusa* (NOBRE et al. 2005). Os animais apresentavam anorexia, depressão acentuada, icterícia moderada, incoordenação e decúbito. Os ovinos morreram em 12 horas após os primeiros sinais clínicos.

Na necropsia o fígado apresentava acentuação do padrão lobular com deposição de fibrina na superfície capsular. A vesícula biliar estava distendida e havia hemorragias subepicárdicas e subendocárdicas, hidropericárdio, hidrotórax e ascite. As lesões histológicas eram caracterizadas por necrose centro-lobular (NOBRE et al. 2005).

Eqüinos intoxicados por APs apresentam icterícia, encefalopatia hepática e fotossensibilização (GAVA & BARROS 1997, NOBRE et al. 2004a, PILATTI & BARROS 2007). Na necropsia o fígado está firme, com superfície irregular e áreas brancas intercaladas com áreas vermelho-escuras e com aumento no padrão lobular. Icterícia moderada, ascite, hidropericárdio e hidrotórax podem, também, ser observados. As lesões histológicas incluem fibrose periportal, megalocitose e proliferação de ductos. Áreas multifocais de hemorragia centro-lobular ou mediozonal, por vezes associadas à necrose são observadas. No sistema nervoso pode-se observar congestão, discretas

hemorragias, principalmente perivasculares e astrócitos Alzheimer tipo II no núcleo caudato e no córtex.

2.7 Controle de *Senecio spp.* pela utilização de ovinos

Em função dos ovinos mostrarem menor sensibilidade aos efeitos tóxicos de *Senecio spp.* e por ingerirem a planta mais prontamente que equinos e bovinos (LONG 1924, HURST 1942, DOLLAHITE 1972, CRAIG et al. 1991), com frequência esta espécie animal é utilizada no controle das plantas do gênero. Não se sabe até que ponto esta prática é prejudicial, já que têm sido relatadas mortes em ovinos pela intoxicação por *Senecio spp.* (FORSYTH 1972, BEZERRA et al. 1997, ILHA et al. 2001, KELLERMAN et al. 2005, SCHILD et al. 2007).

No Rio Grande do Sul, em áreas de criação de ovinos, grandes quantidades de *Senecio spp.* só são observadas na beira de estradas, fora do alcance de ovinos e nas proximidades das cidades. Para alguns criadores, a ocorrência de *Senecio* nos campos é indício de que a lotação de ovinos nos pastos é insuficiente (TOKARNIA et al. 2000). Foi observado em uma propriedade rural que a utilização de 0,43 ovinos por hectare em pastoreio contínuo aparentemente controlava a planta (SOARES et al. 2000).

No Brasil, surtos de intoxicação por *Senecio spp.* em ovinos são raros. No Rio Grande do Sul, o primeiro surto em ovinos foi descrito em 2001, com morbidade de aproximadamente 50% e letalidade de quase 100% (ILHA et al. 2001). No ano de 2006, dois surtos de intoxicação por *Senecio spp.* na espécie ovina foram observados na área de influência do Laboratório Regional de Diagnóstico (LRD) da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (UFPeL) (SCHILD et al. 2007). A ocorrência desses surtos sugere que para que possam ser utilizados ovinos no controle de *Senecio spp.* nas pastagens é necessário, previamente, conhecer as condições nas quais ocorre a intoxicação nessa espécie.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Estudo dos padrões morfológicos das lesões hepáticas de bovinos intoxicados espontaneamente por *Senecio* spp. entre 2000 e 2008

Foi realizado um estudo retrospectivo dos surtos de seneciose em bovinos no período entre 2000 e 2006 por levantamento dos protocolos de encaminhamento de órgãos obtidos por necropsias ou materiais remetidos ao LRD e um estudo prospectivo dos casos de seneciose diagnosticados a partir de 2007 até dezembro de 2008. Fragmentos de fígado foram incluídos em parafina, seccionados com 5 µm e corados por hematoxilina e eosina (HE) e tricrômico de Masson (TM). Foi realizada a análise das lesões macroscópicas e microscópicas de todos os casos, as quais foram agrupadas de acordo com padrões morfológicos semelhantes, classificados de 1 a 7. O padrão microscópico foi utilizado como determinante nos casos em que as lesões macroscópicas não eram facilmente classificadas em um grupo específico.

Em dois surtos, um ocorrido em novembro de 2007 e outro em dezembro do mesmo ano, oito e 22 bovinos suspeitos de intoxicação por *Senecio* spp., respectivamente, foram enviados a frigoríficos e os fígados desses animais foram coletados no momento do abate.

3.2. Variações climáticas no período 2000-2008

Foi realizado um levantamento dos dados de precipitação pluviométrica dos últimos 30 anos e temperaturas médias mensais entre os anos 2000-2008 da região de influência do LRD, que foram obtidos na Estação Agroclimatológica, convênio EMBRAPA/ UFPel.

3.3 Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em ovinos

Foram estudados 2 surtos espontâneos de intoxicação por *Senecio* spp. em ovinos ocorridos em 2006 em duas propriedades localizadas nos municípios de Bagé (Propriedade A) e Piratini (Propriedade B) respectivamente. Os dados epidemiológicos e os sinais clínicos foram obtidos junto aos proprietários no momento dos surtos.

A patologia da intoxicação foi estudada em órgãos de um ovino enviados ao LRD e em uma necropsia de outro ovino afetado da Propriedade A e em duas necropsias realizadas em ovinos afetados da Propriedade B. Os órgãos foram incluídos em parafina cortados com 5 µm de espessura e corados pela técnica de hematoxilina e eosina.

Amostras de fígado formalizadas do ovino necropsiado na propriedade A foram enviadas ao Laboratório de Análises Toxicológicas (LATOX), Porto Alegre, RS, para dosagem de cobre pela técnica de espectrofotometria de absorção atômica.

3.4 Intoxicação experimental em ovinos

Para a realização dos experimentos foram utilizados folhas e talos verdes de *Senecio brasiliensis* colhidos imediatamente antes da administração. Os exemplares da planta foram coletados no município de Pelotas.

3.4.1 Experimento 1. Determinação da dose tóxica para causar intoxicação aguda

Foram utilizados 5 ovinos Corriedale, machos de 1,5 anos de idade. Foram administradas doses de 60g, 80g e 100g/kg de peso corporal (pc) de folhas frescas de *S. brasiliensis* em dose única para 3 ovinos (Ovinos 1, 2 e 3) até que se reproduzisse a forma aguda da intoxicação. Posteriormente dois outros animais (Ovinos 4 e 5) receberam 90g e 100g/kg de pc da planta, também, em dose única. Foram realizadas biópsias hepáticas aos 90, 120 e 150 dias do término da administração da planta.

3.2.2 Experimento 2. Fracionamento da dose tóxica que induz intoxicação aguda

A partir da determinação da dose de planta que causa intoxicação aguda 3 ovinos Corriedale (Ovinos 6, 7 e 8), machos de 1,5 anos de idade receberam a dose de planta suficiente para causar a intoxicação aguda dividida em 2, 5 e 10 doses administradas diariamente durante 2, 5 e 10 dias, respectivamente. Os dados deste experimento encontram-se na Tabela 1. Foram realizadas biópsias hepáticas dos Ovinos 6 e 7 aos 60, 90 e 150 dias após administração da última dose de planta e do Ovino 8 aos 30 dias do término da administração. Esse ovino foi incluído também no experimento 3.

3.2.3 Experimento 3. Indução de resistência em ovinos a intoxicação por *Senecio brasiliensis*

Inicialmente, foram administrados 100g/kg de pc de folhas e talos de *S. brasiliensis* a um ovino (Ovino 8), para o qual anteriormente (45 dias antes) havia sido administrado 10g/kg de pc por dia por 10 dias. Posteriormente três ovinos (Ovinos 9, 10, 11) dois machos e uma fêmea de 8 meses de idade, receberam 15g/kg de pc de folhas e talos de *S. brasiliensis* diariamente por 30 dias e 30g/kg de pc por 10 dias, também diariamente. No dia seguinte a última administração de 30g/kg de pc, os Ovinos 9 e 10 foram submetidos a desafio com a dose tóxica causadora da forma aguda da intoxicação em dose única. Os ovinos foram observados diariamente para a detecção de qualquer sinal clínico de intoxicação. Biópsias hepáticas foram realizadas aos 15 e 30 dias do início experimento nos ovinos 9,10 e 11 e 15 dias após o desafio com a dose tóxica. O ovino 11 foi desafiado 15 dias após a ingestão da última dose de 30g/kg de pc. Os dados dos ovinos experimentais são apresentados na Tabela 1. Em todos os experimentos os animais que morreram espontaneamente em consequência da intoxicação foram necropsiados e fragmentos dos órgãos das cavidades abdominal e torácica e o sistema nervoso central, foram fixados em formalina a 10%, processados rotineiramente para histopatologia e corados pela hematoxilina-eosina.

Tabela 1. Número e peso dos ovinos usados no experimento, dose de *Senecio brasiliensis* administrada, número de doses e intervalo entre a administração da planta e momento da realização das biópsias hepáticas

Ovino/ experimento	Peso (kg)	Dose (g/kg)	Nº de doses	Intervalo entre o final da administração/Realização da biópsia
1 / 1	23	60	1	90 -120-150
2 / 1	25	80	1	90 -120-150
3 / 1	24	100	1	-
4 / 1	24	100	1	-
5 / 1	23	90	1	-
6 / 2	20	50	2	60 - 90-120-150
7 / 2	21,5	20	5	60 -90-120-150
8 / 2-3	23	10	10	30
		100	1	
9 / 3	21	15	30	30
		30	10	40
		100	1	30
10/3	24	15	30	15
		30	10	30
		100	1	15
11/3	23	15	30	15
		30	15	30
		100	1	

4. RESULTADOS

4.1. Padrões morfológicos hepáticos e epidemiologia dos surtos de seneciose em bovinos no período entre 2000 e 2008

Na Tabela 2 e Figura 1 é apresentado o número de surtos de seneciose diagnosticados nos diferentes meses do ano entre 2000-2008 na área de influência do LRD.

Foram estudados 54 surtos da intoxicação no período 2000-2006 e 33 entre 2007 e 2008, totalizando 87 surtos.

No estudo retrospectivo dos 54 surtos de surtos de intoxicação por *Senecio* spp em bovinos estudados observou-se que 28 afetaram bovinos adultos, 10 ocorreram em animais menores de 3 anos de idade e em 16 os dados dos protocolos de necropsia mencionavam diferentes categorias afetadas sem especificar a idade. Dos 10 surtos ocorridos em animais jovens (menores que 3 anos de idade), 6 ocorreram no ano de 2006. Em 36 surtos a evolução dos sinais clínicos até a morte do animal estava especificada nos protocolos de necropsia, sendo que ocorreu em período inferior a uma semana em 17 surtos; entre uma e três semanas em 10 surtos; em um mês em um surto; entre 2-4 meses em quatro surtos; e em mais de quatro meses em quatro surtos.

Os sinais clínicos não foram especificados em sete surtos. Dos 47 restantes observou-se que os sinais clínicos foram de diarreia (26/47) emagrecimento progressivo (22/47), sinais neurológicos de agressividade, incoordenação motora, depressão e apatia (20/47), tenesmo (5/47), fotossensibilização (2/47) e icterícia (3/47).

As lesões macroscópicas não foram descritas em 11 dos surtos estudados. Nos restantes observou-se edema do mesentério, ascite e edema

de abomaso (22/43); hemorragias nas serosas e endocárdio (8/43); e edema da vesícula biliar (18/43).

No estudo prospectivo de 33 surtos de intoxicação por *Senecio* spp em bovinos estudados nos anos de 2007 e 2008 observou-se que 20 afetaram bovinos adultos, 10 ocorreram em animais menores de 3 anos de idade e em 3 os dados dos protocolos de necropsia mencionavam diferentes categorias afetadas sem especificar a idade. Em 31 surtos a evolução dos sinais clínicos até a morte do animal estava especificada nos protocolos de necropsia, sendo que ocorreu em período inferior a uma semana em oito surtos; entre uma e três semanas em oito surtos; em um mês em quatro surtos; entre 2-4 meses em cinco surtos; e em mais de quatro meses em seis surtos.

Os sinais clínicos não foram especificados em um surto. Dos 32 restantes observou-se que os sinais clínicos foram de diarreia (20/32) emagrecimento progressivo (12/32), sinais neurológicos de agressividade, incoordenação motora, depressão e apatia (22/32), tenesmo (6/32), fotossensibilização (1/32) e icterícia (1/32).

Em 15 surtos estudados foram enviados órgãos ao LRD sem descrição de lesões macroscópicas nos históricos. Nos restantes observou-se edema do mesentério, ascite e edema de abomaso (10/18); hemorragias nas serosas e endocárdio (2/18); e edema da vesícula biliar (12/18).

As alterações hepáticas macroscópicas encontradas foram estudadas em 30 surtos no estudo retrospectivo. Em 24 destes surtos era mencionado apenas que o fígado estava firme ao corte. As alterações macroscópicas foram estudadas nos 33 surtos da intoxicação no estudo prospectivo.

As alterações hepáticas macro e microscópicas estudadas foram agrupadas e classificadas em sete padrões morfológicos macroscópicos e microscópicos correlacionados, descritos a seguir.

Padrões Morfológicos hepáticos macroscópicos

Padrão 1: fígado firme, esbranquiçado ou avermelhado com nodulações mais claras ou mais escuras, de tamanhos variados dispersos pelo parênquima hepático, tanto na superfície capsular como de corte (Fig 2).

Padrão 2: fígado homogeneamente esbranquiçado (Fig. 3) e firme.

Padrão 3: fígado levemente mais claro que o normal e entremeado por estriações esbranquiçadas sobressaindo ao parênquima hepático (Fig. 4).

Padrão 4: fígado de consistência normal e entremeado por áreas pontilhadas avermelhadas intercaladas por áreas mais claras (Fig. 5).

Padrão 5: fígado firme, mais escuro que o normal, com acentuação do padrão lobular e áreas hemorrágicas (Fig. 6A e B).

Padrão 6: fígado levemente amarelado, com acentuação do padrão lobular ou com áreas claras intercaladas com áreas escuras (Fig. 7).

Padrão 7: fígado alaranjado com superfície de corte irregular formando um padrão lobado (Fig. 8)

Padrões histopatológicos hepáticos

Os casos estudados foram classificados nos diferentes padrões histológicos de acordo com a lesão microscópica predominante sendo que em alguns casos foram atribuídos mais de um padrão a um único fígado. Os padrões histológicos correspondem aos padrões macroscópicos de mesmo número.

Padrão 1: presença de nódulos regenerativos de hepatócitos, por vezes com citoplasma vacuolizado, circundados por espesso tecido conjuntivo fibroso (Figs. 9 e 10), proliferação de ductos dispersos no tecido conjuntivo e megalocitose discreta.

Padrão 2: lesão representada por fibrose difusa (Fig 11), com hepatócitos remanescentes distribuídos em pequenos grupos ilhados por tecido conjuntivo fibroso (Fig. 12) e proliferação de ductos biliares. Nestes casos a megalocitose era discreta.

Padrão 3: a lesão predominante caracterizava-se por fibrose em ponte (Figs. 13 e 14). A megalocitose era mais evidente neste padrão, bem como a proliferação de células dos ductos biliares.

Padrão 4: havia megalocitose acentuada, proliferação de ductos e fibrose em estágio inicial predominante nos espaços- porta (Fig. 15). Nestes casos colágeno imaturo podia ser observado entre os cordões de hepatócitos (Figs.16 e 17), modificando sua organização em alguns casos.

Padrão 5: as lesões predominantes eram caracterizadas por proliferação de ductos biliares (Fig.18), megalocitose e fibrose de discreta a moderada (Fig.19).

Padrão 6: havia acentuada hemorragia e congestão e necrose individual e aleatória de hepatócitos (Fig.20). A megalocitose era acentuada e havia moderada fibrose em ponte (Fig.21).

Padrão 7: havia grandes nódulos regenerativos divididos por tecido conjuntivo fibroso que se apresenta mais espesso nas áreas periportais onde há acentuada proliferação de ductos biliares (Fig. 22 e 23).

Nos fígados de oito animais de um surto e 22 de outro, coletados no momento do abate, observou-se que no primeiro todos apresentavam lesões de seneciose. No segundo surto em quatro fígados não havia lesões de seneciose e em três havia apenas megalocitose. Estes últimos não foram classificados dentro dos padrões macroscópicos e microscópicos definidos uma vez que as lesões foram consideradas iniciais.

Nos surtos estudados 19 foram classificados no Padrão macroscópico/histológico 1 sendo 4 no estudo retrospectivo (R) e 15 no prospectivo (P); 31 no Padrão 2 (17 R / 14 P); 15 no Padrão 3 (6 R / 9 P); 4 no Padrão 4 (2 P); 5 no Padrão 5 (2 R / 3 P); 9 no Padrão 6 (3 R / 6 P); e 2 no Padrão 7 (2 P).

4.2 Variações climáticas no período de 2000 a 2008 na área de influência do Laboratório Regional de Diagnóstico

Os resultados das condições climáticas no período do estudo são apresentados nas Tabelas 3 e 4 e nas Figuras 24 e 25.

4.3 Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em ovinos

4.3.1 Epidemiologia

Um surto foi diagnosticado em junho de 2006 em uma propriedade localizada no município de Bagé, RS (propriedade A), afetando 25 ovinos Corriedale adultos de um total de 200 animais sob risco (12,5%) que estavam

em um potreiro altamente infestado pela planta (Fig. 26). O segundo surto foi observado no mês de dezembro de 2006 no município de Piratini (propriedade B), afetando 19 ovinos adultos da raça Texel de um total de 300 (6,3%). Os animais estavam em campo nativo, também infestado por grande quantidade de *Senecio* spp. A taxa de mortalidade foi de 100% nos dois surtos estudados.

4.3.2 Sinais clínicos

Os sinais clínicos observados em ambos os surtos eram caracterizados por perda de peso, fotossensibilização (Fig. 27), icterícia e morte em aproximadamente 4-5 dias após a observação dos primeiros sinais clínicos nos animais do surto da propriedade A e em 30 dias nos ovinos da propriedade B, os quais apresentavam fotossensibilização mais acentuada.

4.3.3 Patologia

Na necropsia realizada em um ovino da propriedade A, as lesões macroscópicas caracterizaram-se por icterícia discreta e generalizada e fígado amarelado e firme. Nas duas necropsias dos animais provenientes da propriedade B, macroscopicamente havia palidez da carcaça, ascite, edema de mesentério e o fígado estava escuro e firme e apresentava pequenos nódulos esbranquiçados de 1-5 mm de diâmetro tanto na superfície capsular como ao corte. (Fig. 28 A e B). Foi observado, ainda, edema discreto da vesícula biliar. Microscopicamente, as lesões hepáticas eram semelhantes em todos os fígados analisados e eram caracterizadas por megalocitose, fibrose periportal, necrose individual e aleatória de hepatócitos e hiperplasia acentuada das células dos ductos biliares. (Fig. 29) Observou-se ainda microscopicamente no fígado do ovino da propriedade A, hepatócitos tumefeitos com pigmento castanho-amarelado intracitoplasmático.

A dosagem de cobre do fígado do ovino da propriedade A mostrou valores superiores a 500 ppm .

4.4 Intoxicação experimental em ovinos

4.4.1 Experimento 1- Determinação da dose tóxica para causar intoxicação aguda

O ovino 1 que ingeriu 60g/kg de peso corporal (pc) em dose única não mostrou sinais clínicos da intoxicação e não foram observadas lesões microscópicas nas biópsias hepáticas realizadas 90 e 120 dias após a administração. O ovino 2 que recebeu 80 g/kg de pc da planta em dose única não apresentou sinais clínicos da intoxicação até o presente, porém biópsias hepáticas demonstraram presença de megalocitose e fibrose discretas, que eram mais acentuadas na biópsia de 120 dias após a administração (Figs. 30 e 31) e continuaram as mesmas em uma biópsia realizada aos 150 dias. Os ovinos 3 e 5 que receberam 100g/kg de pc da planta e o ovino 4 que recebeu 90g/kg de pc em dose única, entre 22 e 24 horas após a administração encontravam-se anoréxicos, prostrados com movimentos de pedalagem (Fig. 32 e 33) e dor abdominal. O Ovino 4 morreu 24 horas após o início dos sinais clínicos. Os Ovinos 3 e 5 morreram entre 2 e 4 horas do início dos sinais clínicos, respectivamente. Na necropsia de todos os animais observou-se ascite acentuada (Fig. 34), petéquias disseminadas pelo omento e mesentério (Fig. 35), edema de abomaso (Fig. 36), fígado com acentuação do padrão lobular e friável (Figs. 37 e 38). Na histopatologia do fígado observou-se necrose hemorrágica centro-lobular acentuada (Fig. 39). Nos demais órgãos não foram observadas lesões.

4.4.2 Experimento 2- Fracionamento da dose tóxica que induz intoxicação aguda

Os ovinos que receberam as doses de 20g/kg de pc por dia por 5 dias(ovino 6) e 50g/kg de pc por dia por dois dias (Ovino 7), nas biópsia hepáticas realizadas 60 dias após a administração da planta apresentaram moderada proliferação de ductos biliares. Esta lesão era mais acentuada e acompanhada de fibrose periportal e megalocitose moderadas nos dois ovinos

nas biópsias realizadas 90 dias após. Nas biópsias realizadas 150 dias após, as lesões não progrediram e continuaram as mesmas.

O Ovino 8 que recebeu 10 g/kg de pc de planta fresca por dia durante 10 dias não apresentou lesões microscópicas da intoxicação na biópsia hepática realizada aos 30 dias do início do experimento.

4.4.3 Experimento 3 – Indução de resistência em ovinos a intoxicação por *Senecio brasiliensis*

O Ovino 8 foi desafiado com a dose tóxica que causa intoxicação aguda aos 45 dias após o término da administração de doses diárias de 10g/Kg de p.c.. Vinte e quatro horas após o desafio o ovino apresentava fezes ressecadas, anorexia e prostração, morrendo 6 horas após o início do aparecimento dos sinais clínicos. Na necropsia e histopatologia as lesões eram semelhantes aos ovinos intoxicados do experimento 1.

Os ovinos 9 e 10 desafiados com 100g/kg de pc de planta verde, após a administração da planta não apresentaram sinais clínicos de intoxicação. As biópsias realizadas aos 15 e 30 dias do início do experimento e 15 dias após o desafio não apresentaram alterações microscópicas. O Ovino 11 apresentou sinais clínicos de depressão entre 22 e 24 horas após a ingestão da planta e morreu entre 4 e seis horas após. Na necropsia o fígado estava escuro e havia discreta acentuação do padrão lobular. Histologicamente havia necrose hemorrágica centrolobular.

Os resultados desses experimentos encontram-se na Tabela 5.

Tabela 2. Surto de intoxicação por *Senecio* spp. em bovinos distribuídos mensalmente entre 2000-2008.

Ano	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Total surtos
2000		1	1				1	1	2	2	2	1	10
2001	2	1		1		1	2	2		1	1	1	12
2002	1					1		2	1		1	1	9
2003			2										2
2004			1	2									3
2005				2						1	1		4
2006		1	3		2	1	1		1		4	1	14
2007		4	3	3	3	2		1	1	4			21
2008			2	3	2		1	2	2				12
Total	3	7	12	11	7	5	5	8	7	7	9	4	87

Tabela 3. Precipitação pluviométrica em mm nas diferentes estações do ano entre 2000-2008

Ano	Precipitação média na primavera*	Precipitação média no verão*	Precipitação média no outono*	Precipitação média no inverno*
2000	142,13	54,1	85,3	195,06
2001	166,3	162,1	175,66	135,36
2002	163,33	173,1	241,13	84,6
2003	89,16	156,13	118,26	145,6
2004	97,93	61,8	210,10	82,5
2005	119,53	81,26	111,3	57,3
2006	90,93	112,5	74,73	83,1
2007	98,76	102,4	149,5	167,5
2008	78,03	107,8	115,5	109,8

- Média normal para a região em um período de 30 anos. Primavera= 111,3; verão= 118,7; outono= 90,5; inverno= 116,5

Tabela 4. Temperatura média (°C) nas diferentes estações do ano entre 2000-2008

Ano	Temperatura média na primavera*	Temperatura média no verão*	Temperatura média no outono*	Temperatura média no inverno*
2000	17	22,9	18,5	12,5
2001	18,36	24,06	19,5	14,8
2002	18,3	23,1	20,1	13,3
2003	17,4	22,9	18,8	13,03
2004	17,2	22,4	18,7	13,5
2005	17,3	22,6	18,3	14,7
2006	17,4	23,0	18,0	14
2007	17	23,8	19,4	11,2
2008	17,3	22,4	18,5	12,9

- Média normal para a região em um período de 30 anos. Primavera= 17,3°; verão= 22,7°; outono= 18,4°; inverno= 12,7°

Tabela 5. Número dos ovinos experimentais, dose da planta administrada, número de doses, presença de lesões e desfecho

Ovino/ experimento	Dose (g/k)	Nº de doses	Lesões	Desfecho
1 / 1	60	1	Sem lesões	vivo
2 / 1	80	1	Com lesões	vivo
3 / 1	100	1	Com lesões	Morte em 2 horas ¹
4 / 1	100	1	Com lesões	Morte em 24 horas ¹
5 / 1	90	1	Com lesões	Morte em 4 horas ¹
6 / 2	50	2	Com lesões	vivo
7 / 2	20	5	Com lesões	vivo
8 / 2	10	10	Com lesões	Morte em 6 horas ¹
	100	1		
9 / 3	15	30	Sem lesões	Vivo
	30	10		
	100	1		
10/3	15	30	Sem lesões	Vivo
	30	10		
	100	1		
11/3	15	30	Com lesões	Morte em 6 horas ¹
	30	15		
	100	1		

¹ Tempo considerado após o início dos sinais clínicos

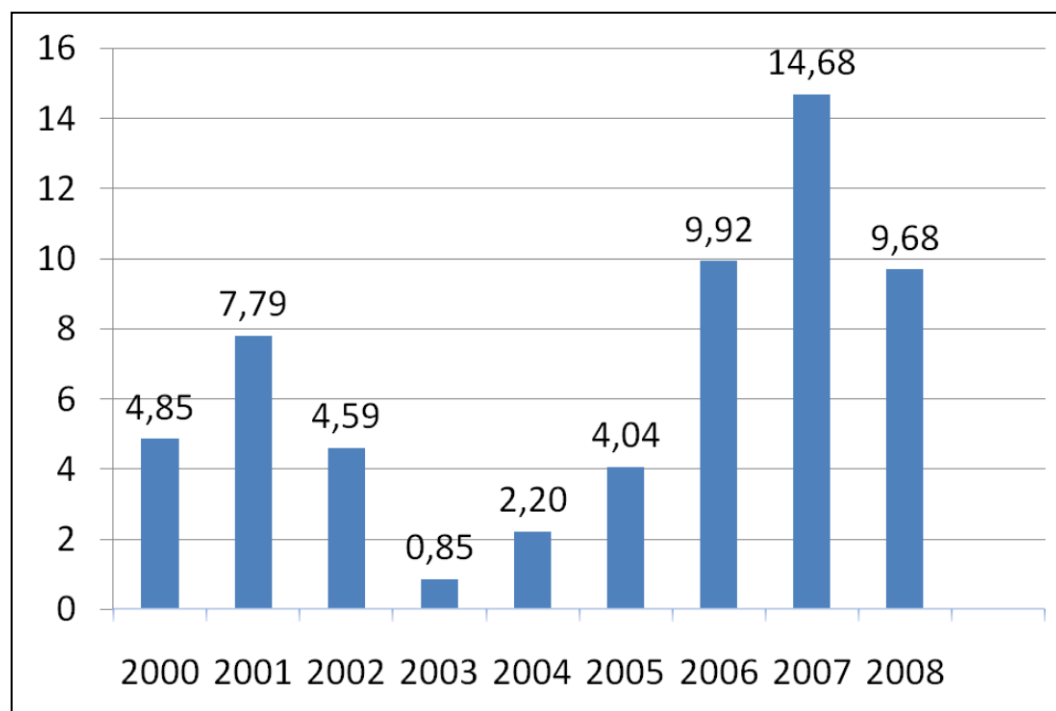


Figura 1. Percentuais dos surtos de intoxicação por *Senecio* spp. em bovinos entre 2000-2008.

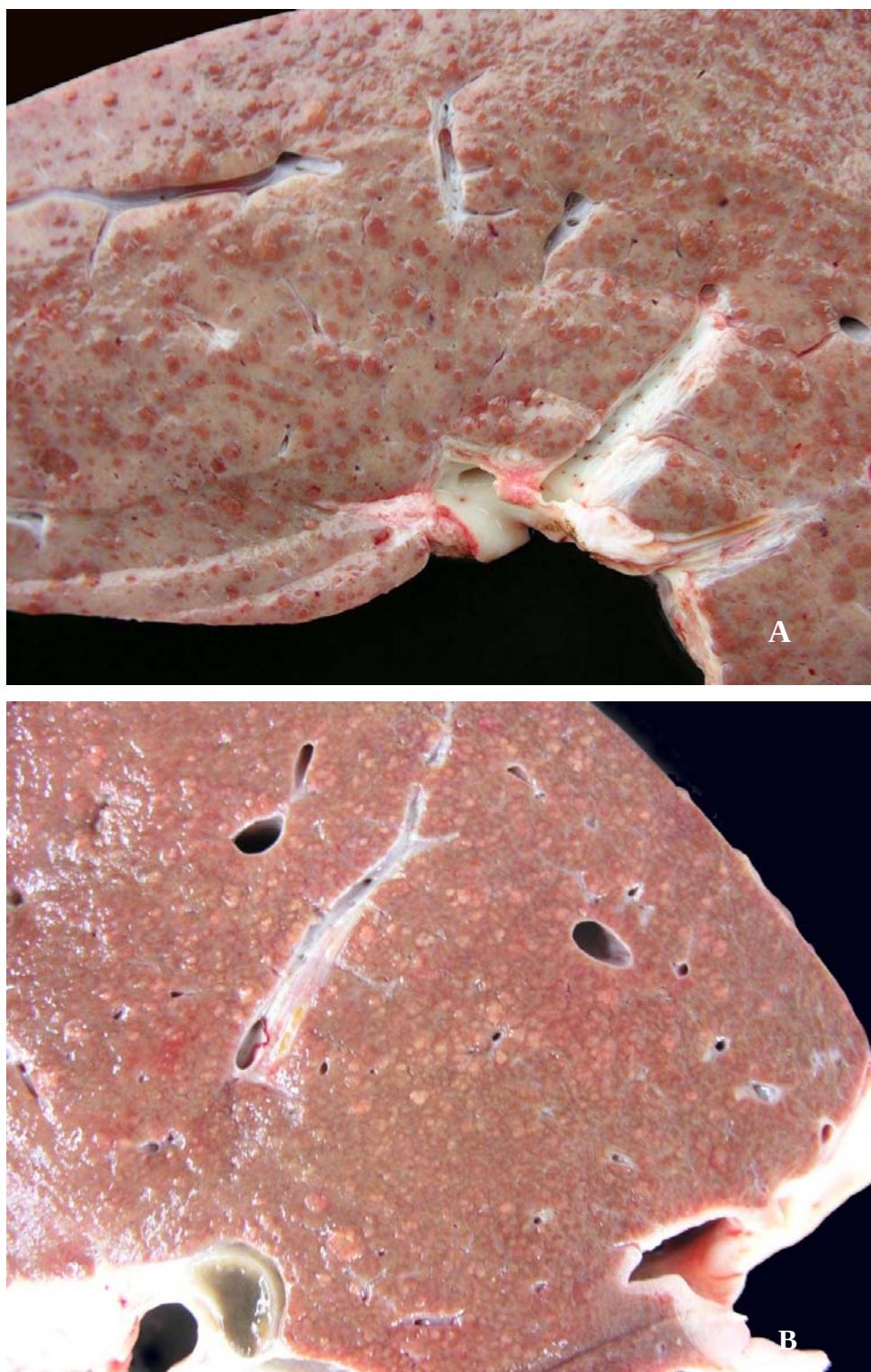


Figura 2. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos. A. Fígado esbranquiçado e com nódulos escuros de tamanhos variados. B. Fígado com coloração avermelhada e com nodulações mais claras. (Padrão macroscópico 1).



Figura 3. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos. Fígado com superfície de corte homogênea e de coloração clara. (Padrão macroscópico 2).



Figura 4. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos. Fígado com estriações esbranquiçadas na superfície de corte (Padrão macroscópico 3).



Figura 5. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos. Fígado pontilhado por pequenas áreas avermelhadas intercaladas por áreas mais claras. (Padrão macroscópico 4).

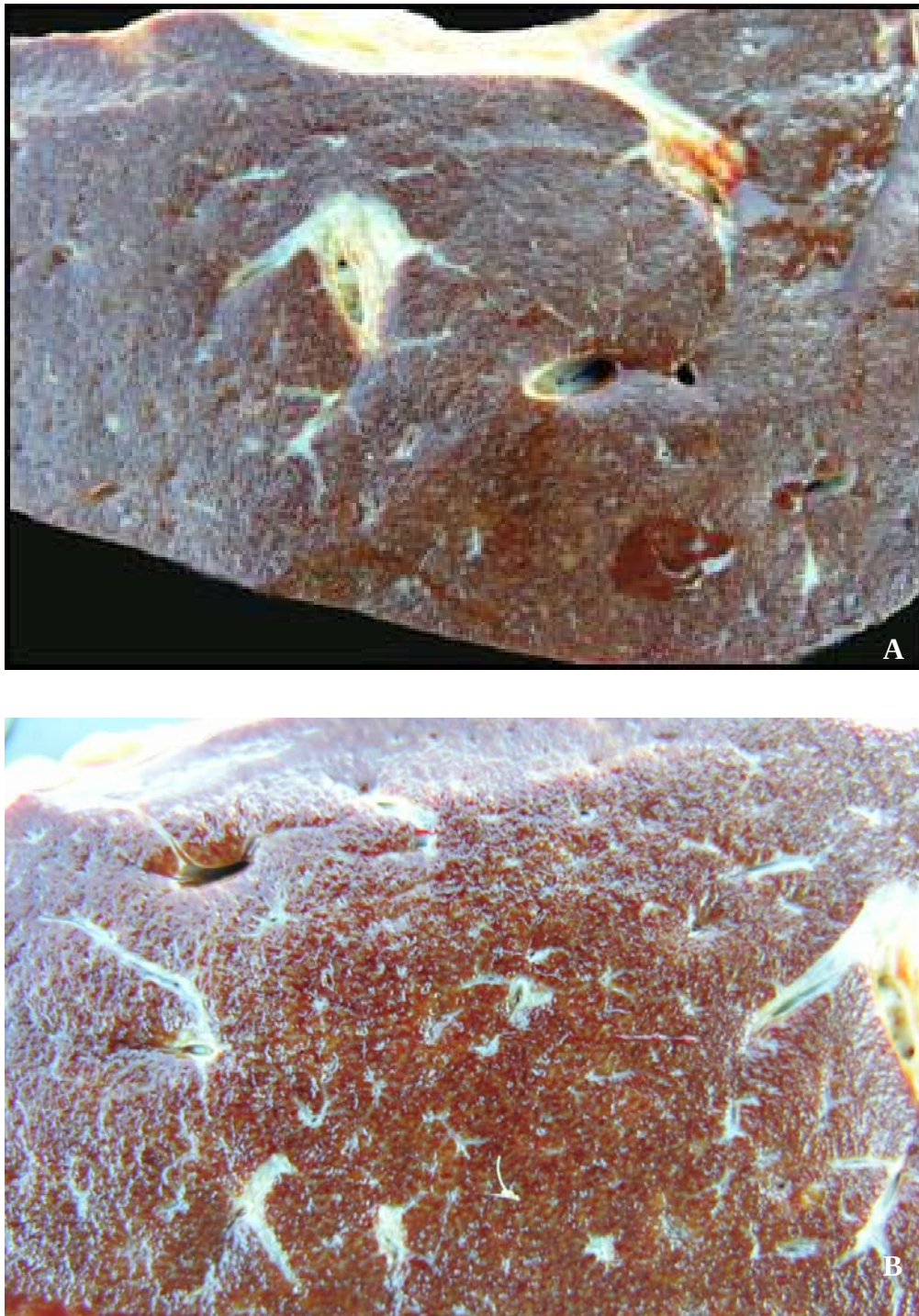


Figura 6. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos. A. Fígado escuro com acentuação do padrão lobular e áreas de hemorragia. B. Fígado escuro com acentuação do padrão lobular (Padrão macroscópico 5).



Figura 7. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos. A. Fígado levemente amarelado, com acentuação do padrão lobular ou com áreas claras intercaladas com áreas escuras. (Padrão macroscópico 6).



Figura 8. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos. Fígado alaranjado, com superfície e corte irregular, formando um padrão lobado (Padrão macroscópico 7).

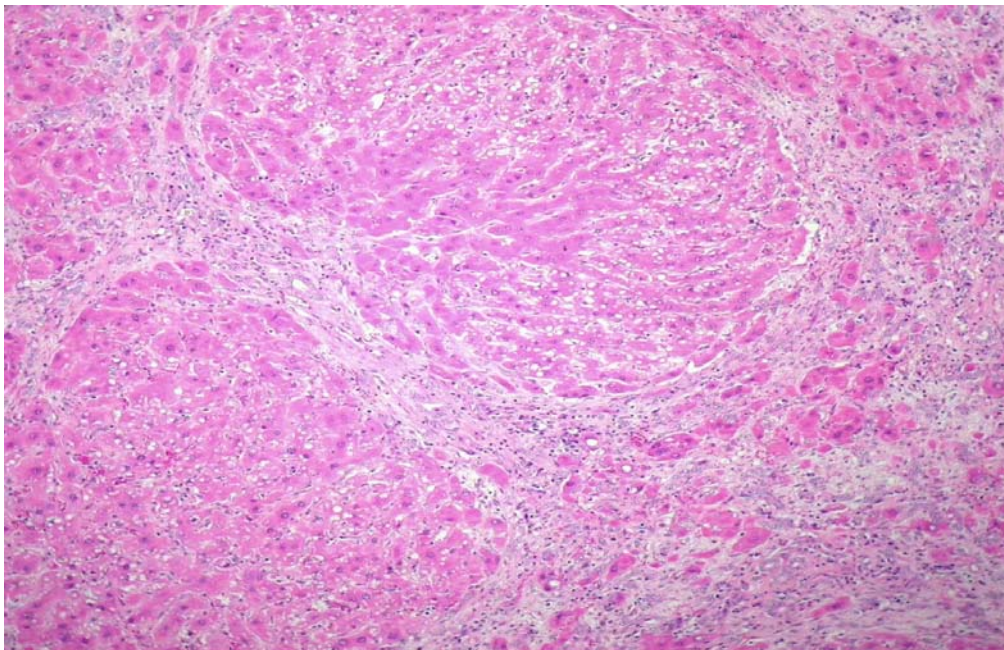


Figura 9. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos. Nódulo regenerativo circundado por tecido conjuntivo fibroso (Padrão histológico 1). (HE, obj. 10x).

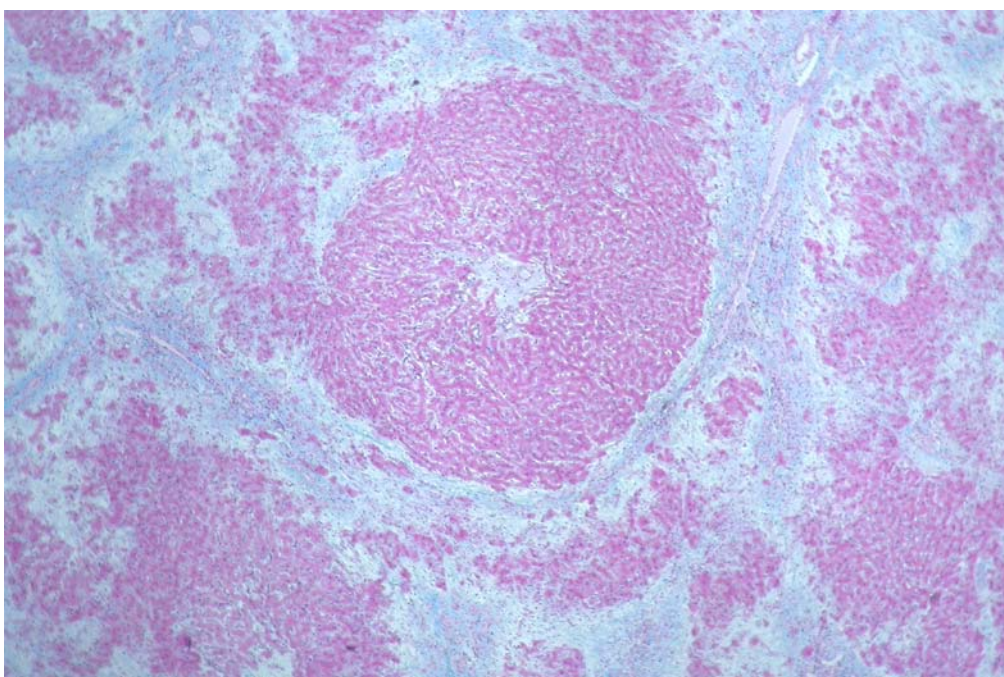


Figura 10. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos. Tecido conjuntivo fibroso circundando nódulo regenerativo. (Padrão microscópico 1) (TM, obj. 10x).

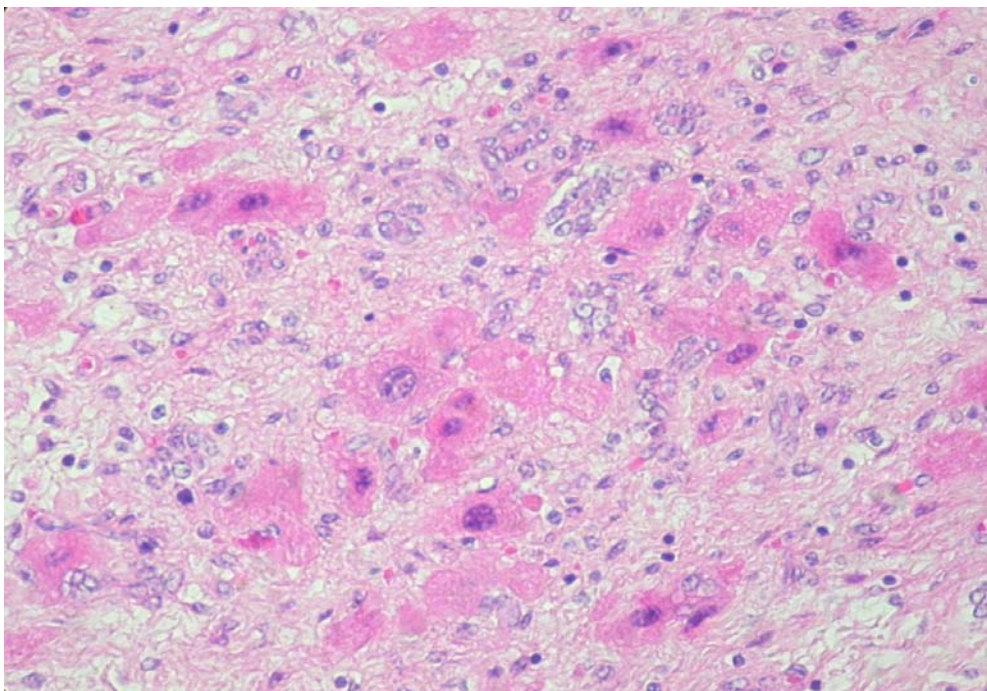


Figura 11.Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos Fibrose difusa, grupos de hepatócitos dispersos e proliferação biliar (Padrão histológico 2) (HE, obj. 20)

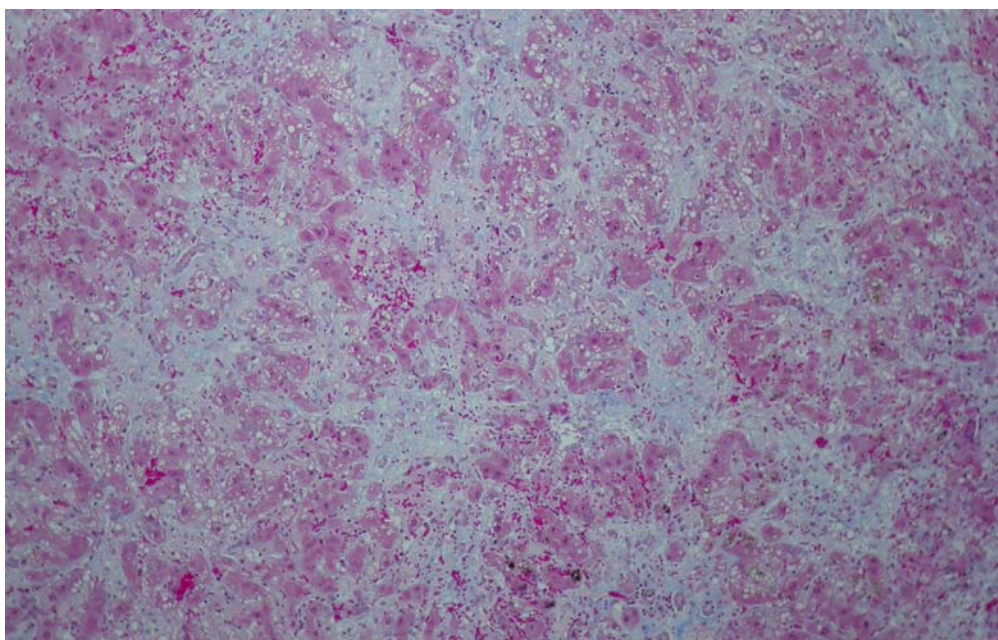


Figura 12. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos Fibrose difusa. (Padrão histológico 2) (TM, obj. 20x).

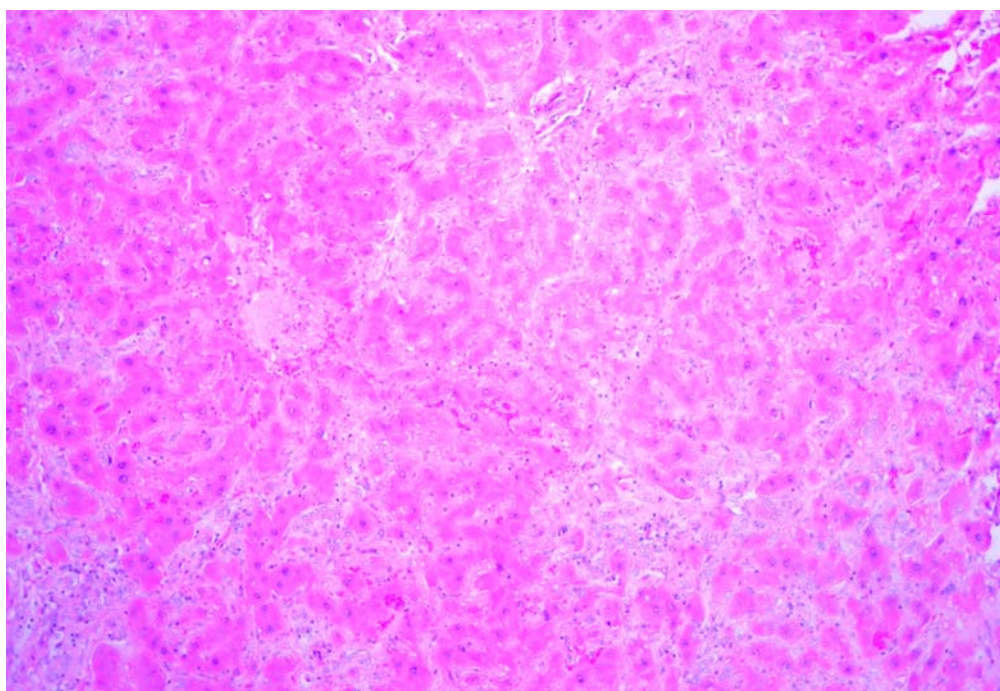


Figura 13. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos. Fibrose em ponte e proliferação de ductos biliares. (Padrão microscópico 3) (HE, obj. 10x)

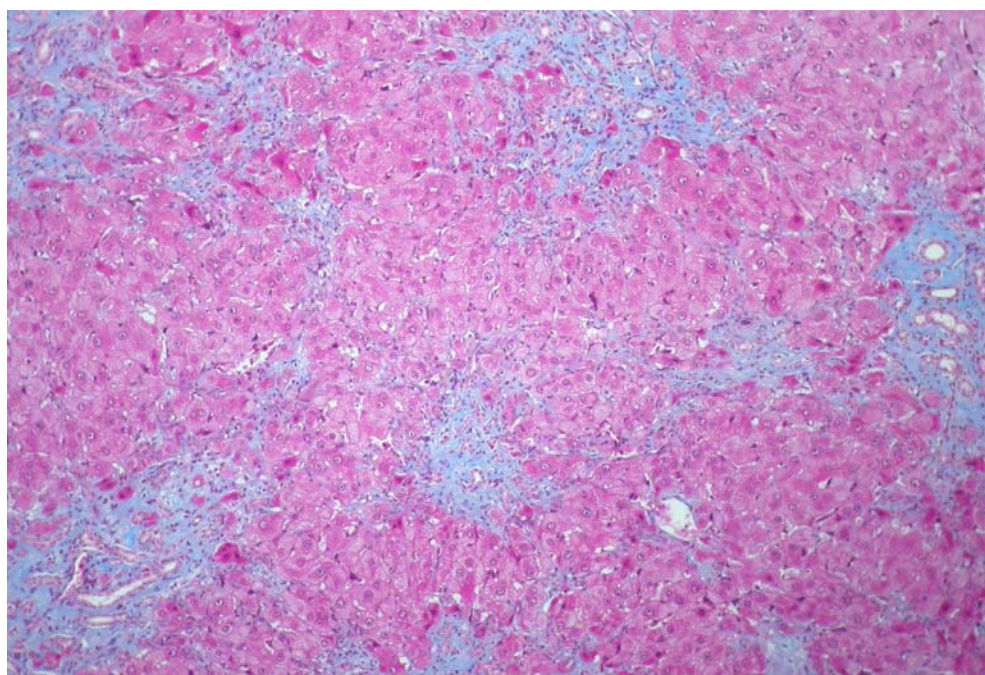


Figura 14. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos. Fibrose em ponte (Padrão mmicroscópico 3). (TM, obj. 10x)

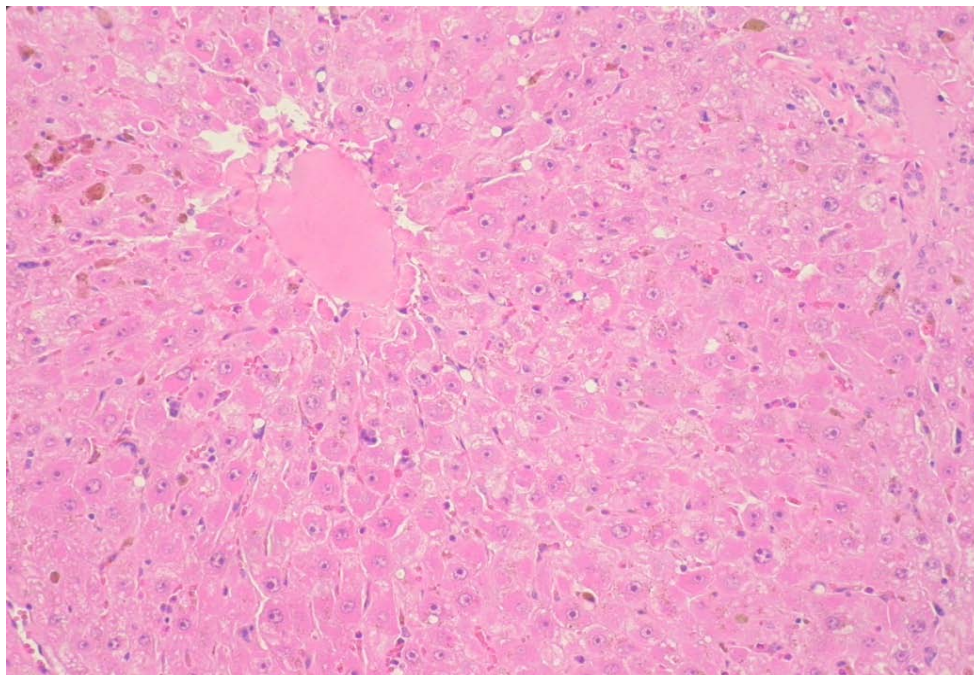


Figura 15. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos. Megalocitose, discreta proliferação de ductos e fibrose inicial (Padrão histológico 4). (HE, obj. 10x).

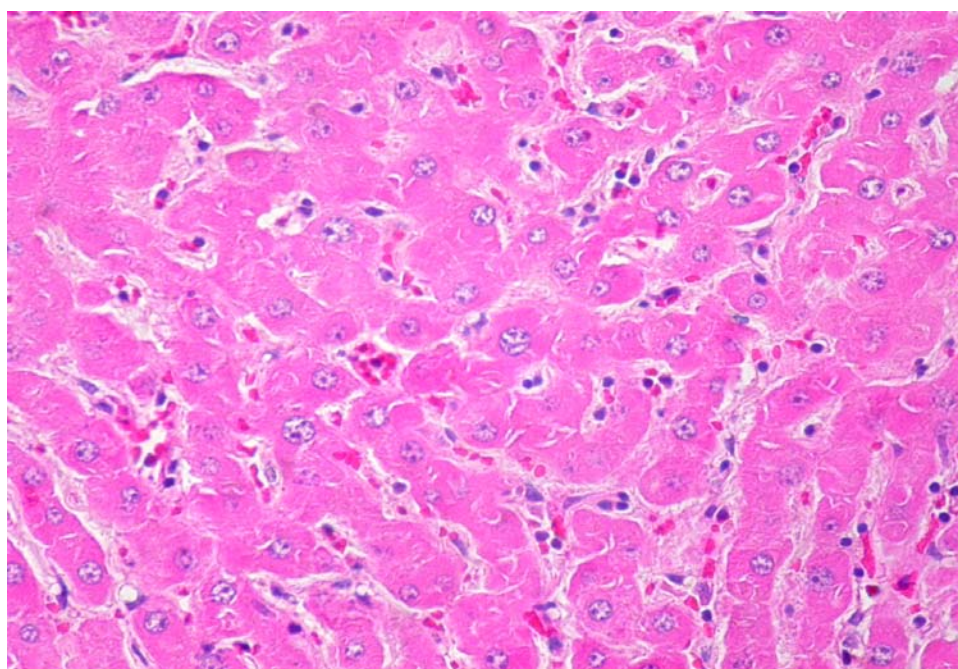


Figura 16. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos. Megalocitose e fibrose inicial (Padrão histológico 4) (HE, obj. 20).

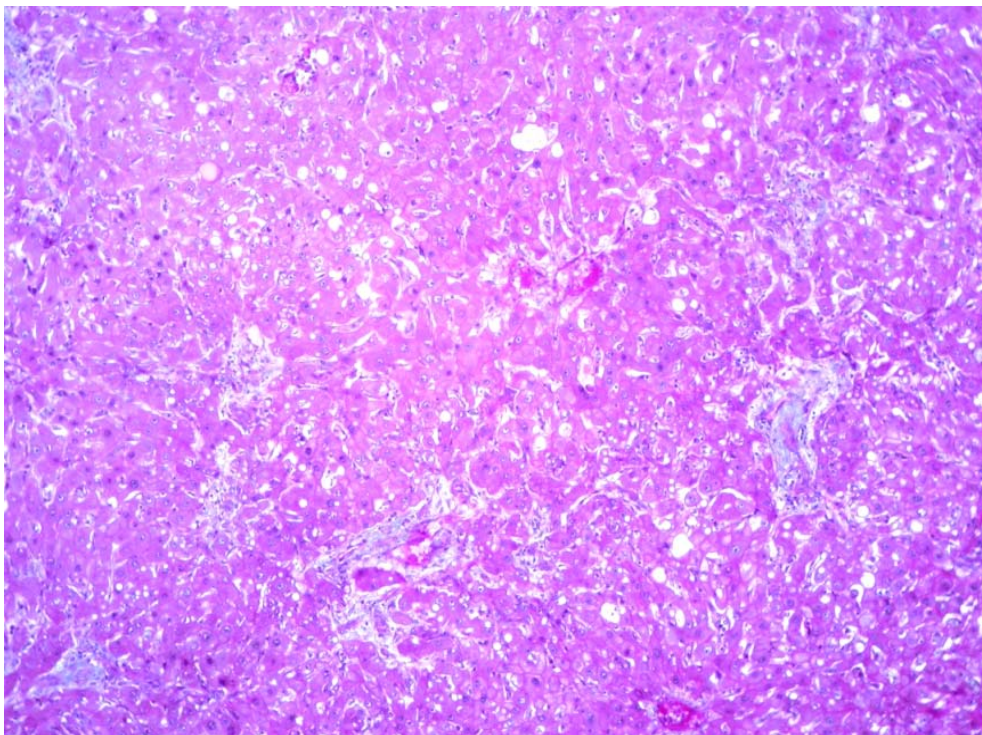


Figura 17. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos. Fibrose discreta (Padrão microscópico 4). (TM, obj. 10x).

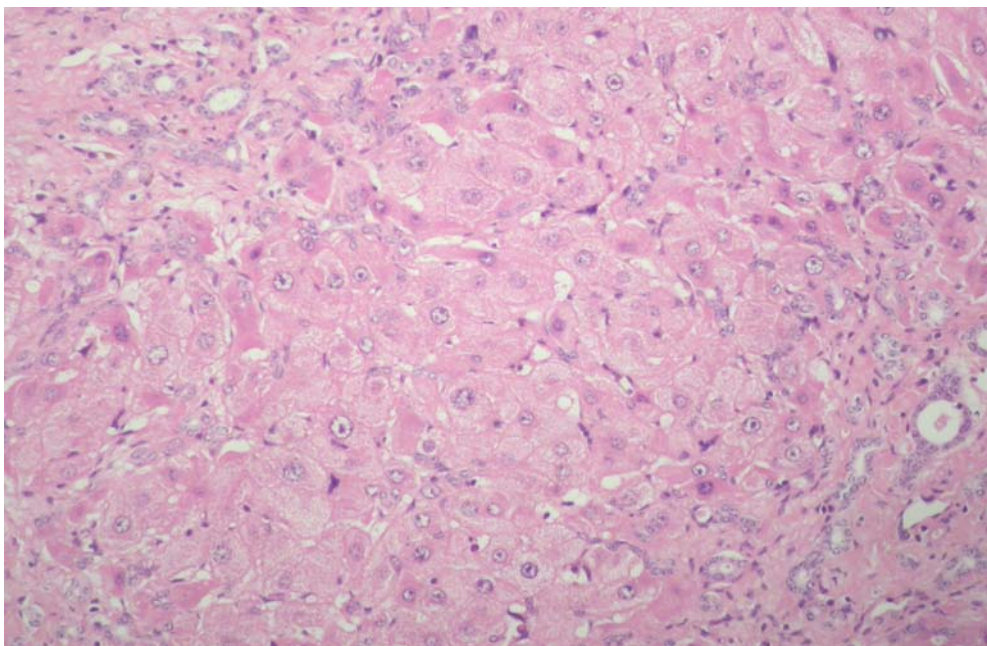


Figura 18 Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos. Proliferação de ductos biliares e fibrose moderada. Padrão histológico 5. HE obj. 20 x

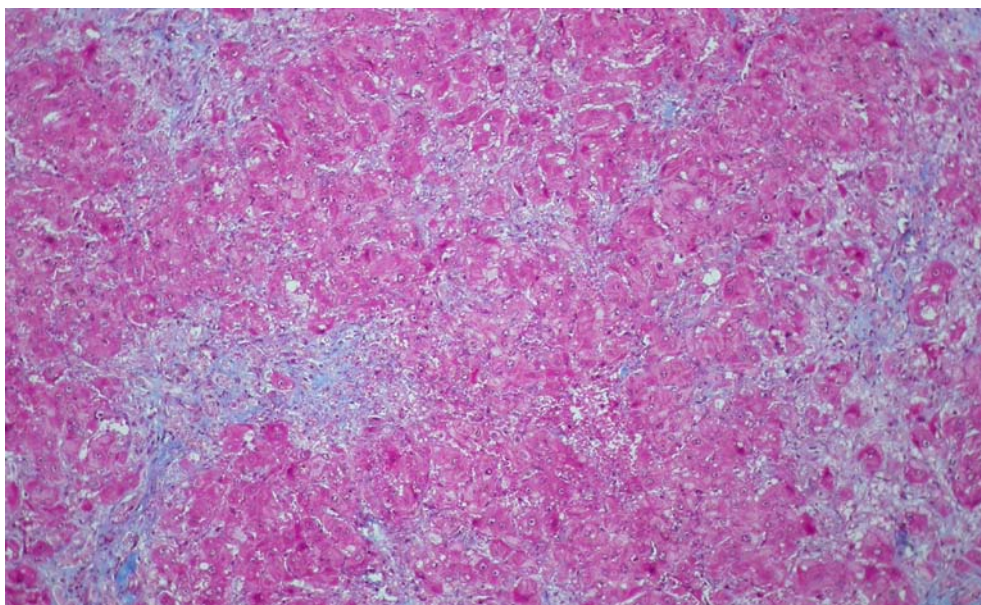


Figura 19. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos. Fibrose moderada. Padrão histológico 5 (TM Obj. 10x)

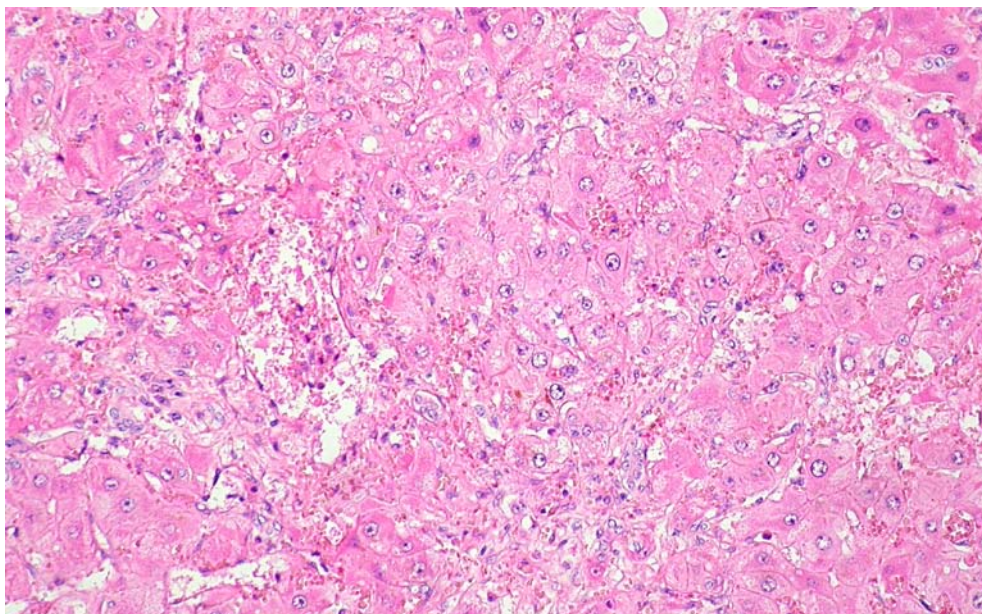


Figura 20. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos. Áreas de hemorragia, megalocitose e fibrose discreta (Padrão histológico 6). (HE, obj. 20x)

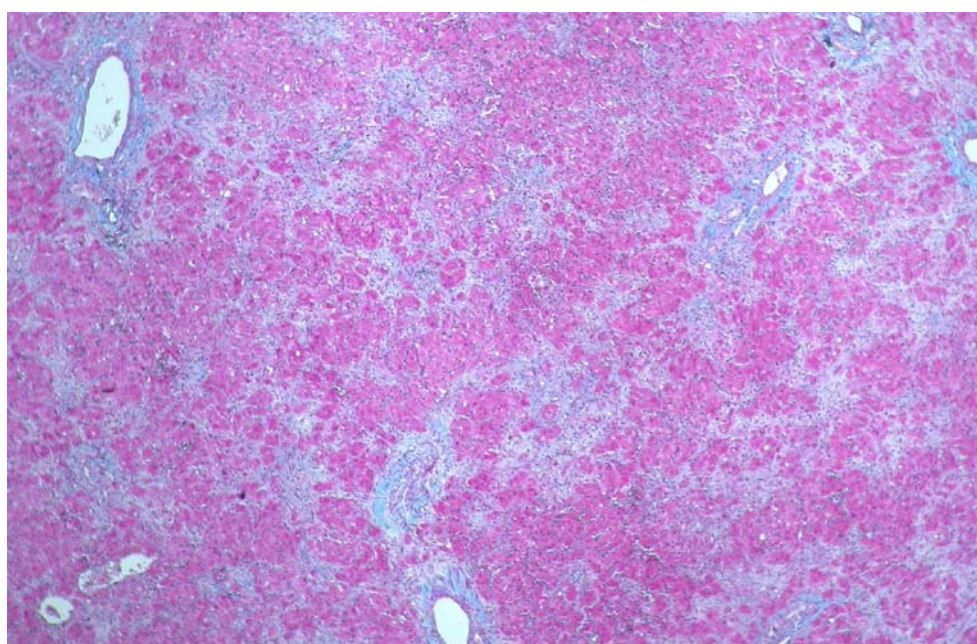


Figura 21. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos. Fibrose moderada (Padrão histológico 6). (T.M, obj. 10x).

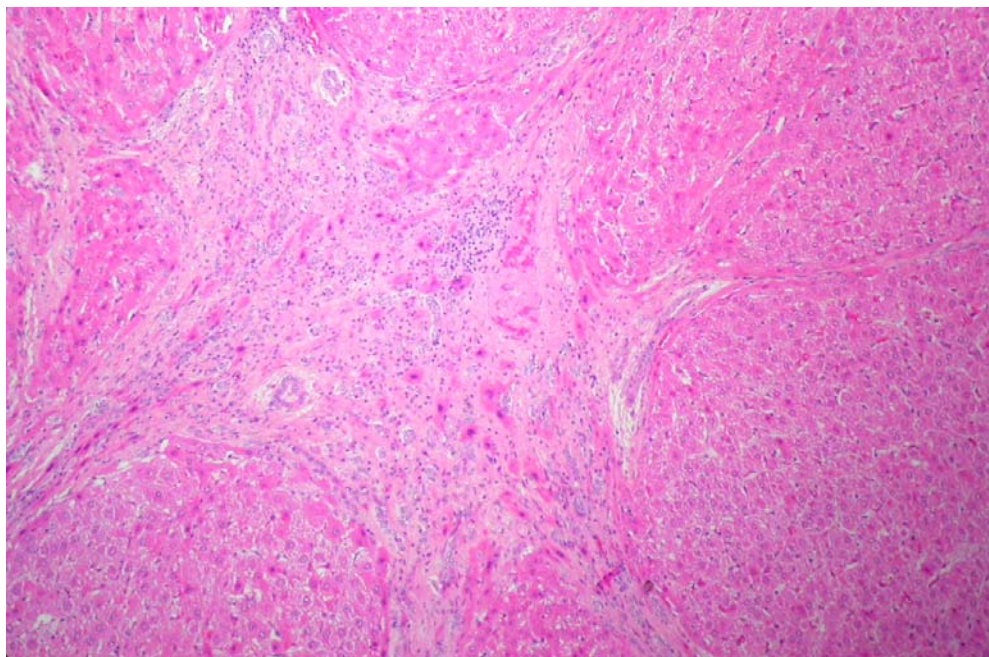


Figura 22. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos. Grandes nódulos regenerativos divididos por finos cordões de tecido conjuntivo e acentuada proliferação de ductos biliares (Padrão histológico 7). (HE, obj. 10x).

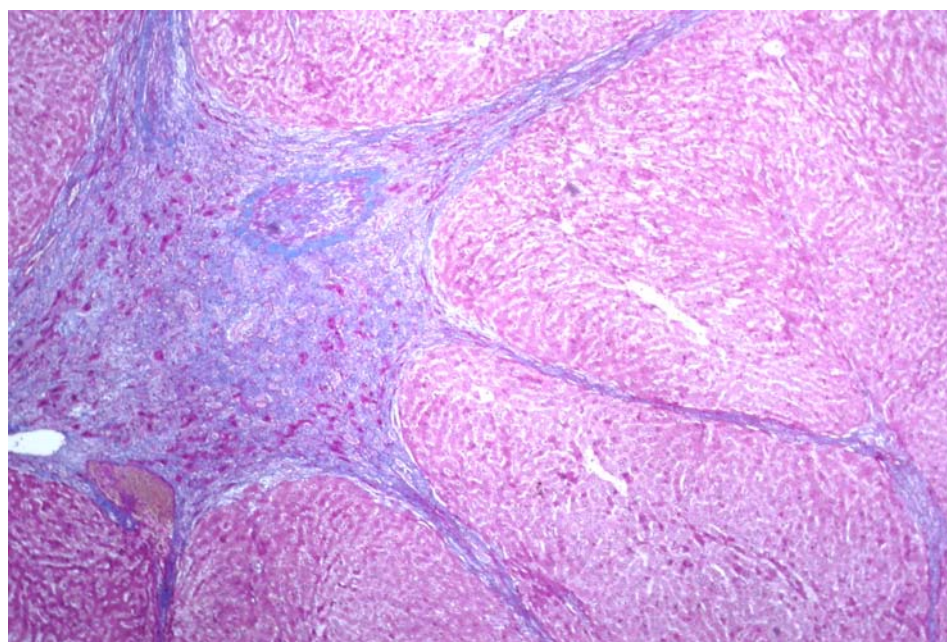


Figura 23. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em bovinos. Grandes nódulos regenerativos divididos por finos cordões de tecido conjuntivo (Padrão histológico 7). (TM, obj. 10x).

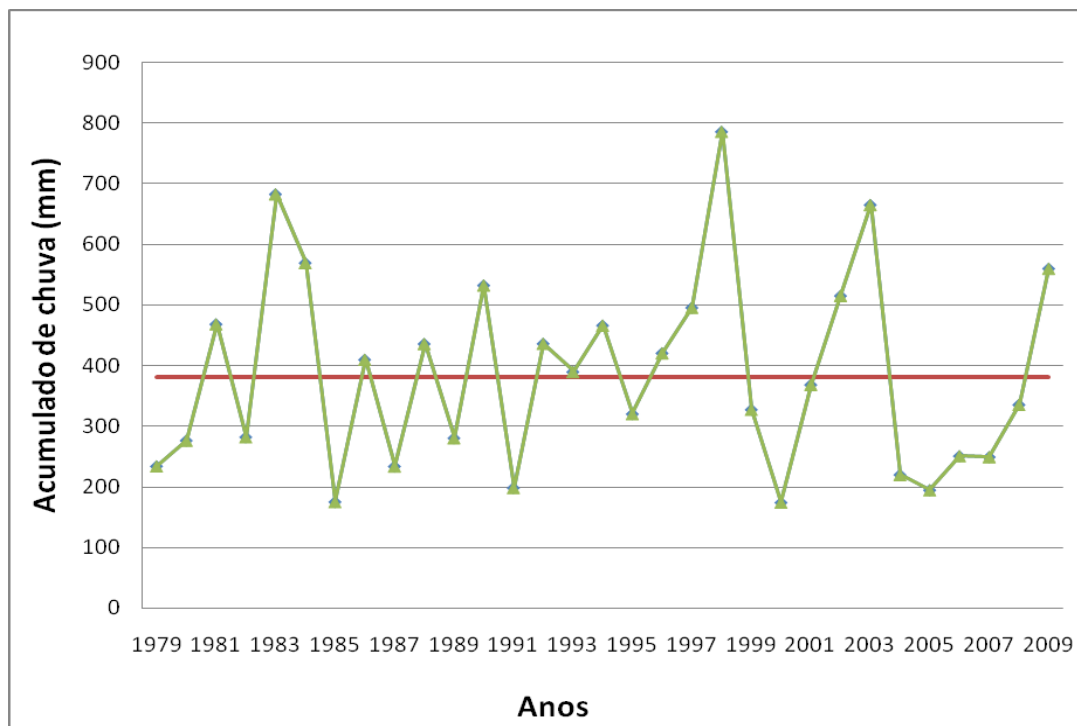


Figura 24. Precipitação pluviométrica acumulada nos meses de verão dos últimos 30 anos nos municípios da área de influência do LRD

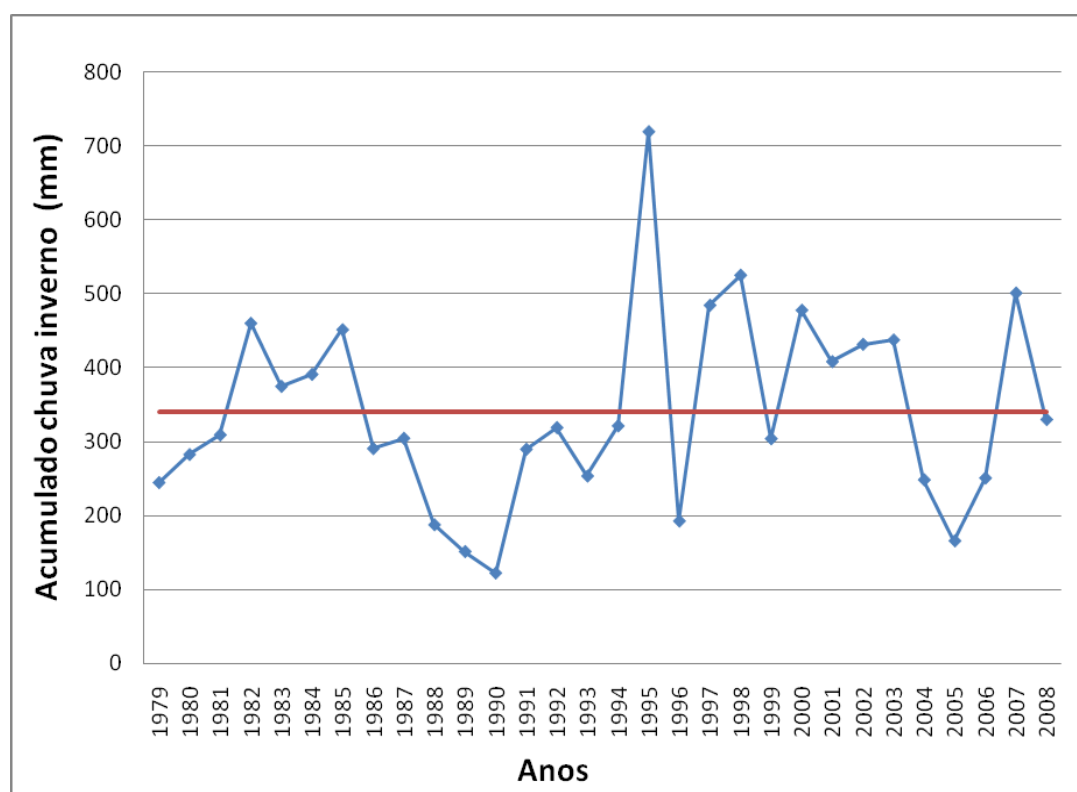


Figura 25. Precipitação pluviométrica acumulada nos meses de inverno dos últimos 30 anos nos municípios da área de influência do LRD



Figura 26. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em ovinos no município de Bagé. (propriedade A). Observa-se área severamente invadida por *Senecio brasiliensis* e com escassez de forragem



Figura 27. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em ovinos. Há lesões de fotossensibilização nas orelhas (Ovino do surto da Propriedade B).



Figura 28. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em ovinos. Múltiplos nódulos irregulares de diversos tamanhos na superfície capsular (A) e na superfície de corte (B) em ovino da Propriedade B.

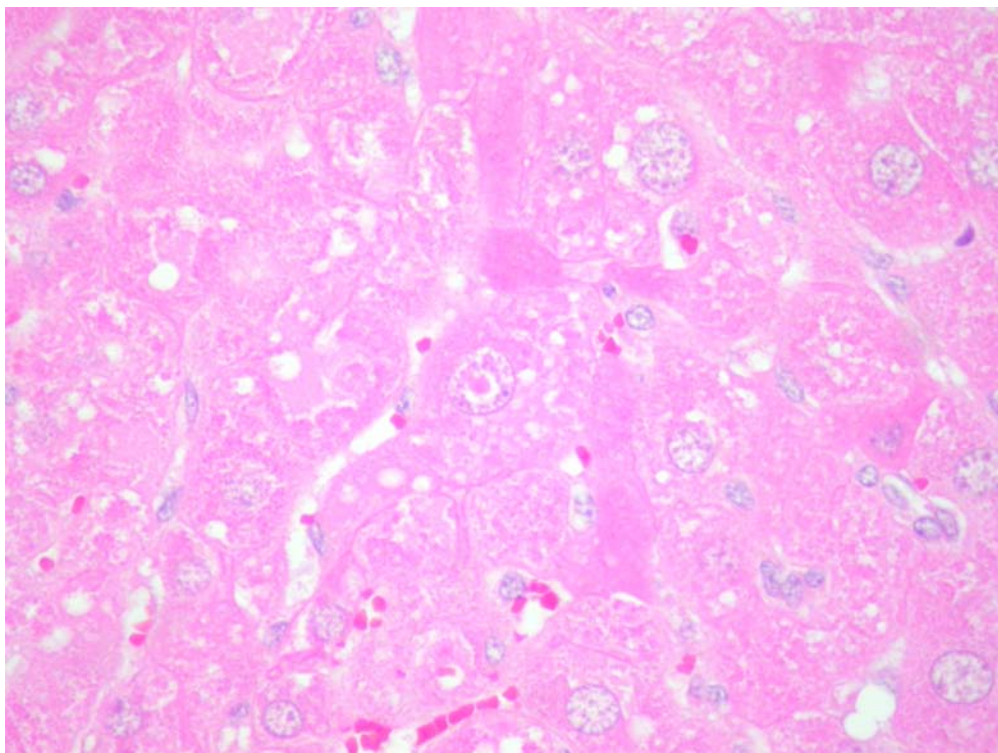


Figura 29. Intoxicação espontânea por *Senecio* spp. em ovinos..Há megalocitose, pseudo-inclusão em hepatócito e proliferação de ductos no parênquima hepático (Ovino da Propriedade B).

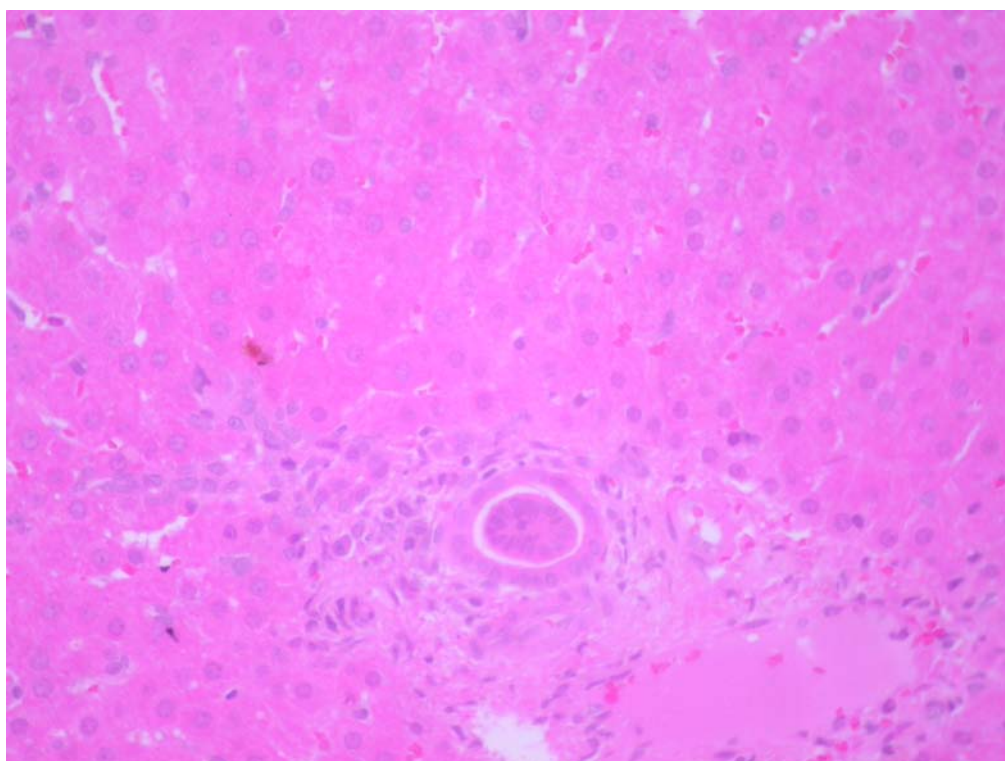


Figura 30. Intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* em ovinos. Ovino 2. Biópsia hepática aos 90 dias do início do experimento. Há proliferação de células de ductos e fibrose periportal discretas.O conteúdo no interior do ducto biliar trata-se de artefato (HE, obj. 40x)

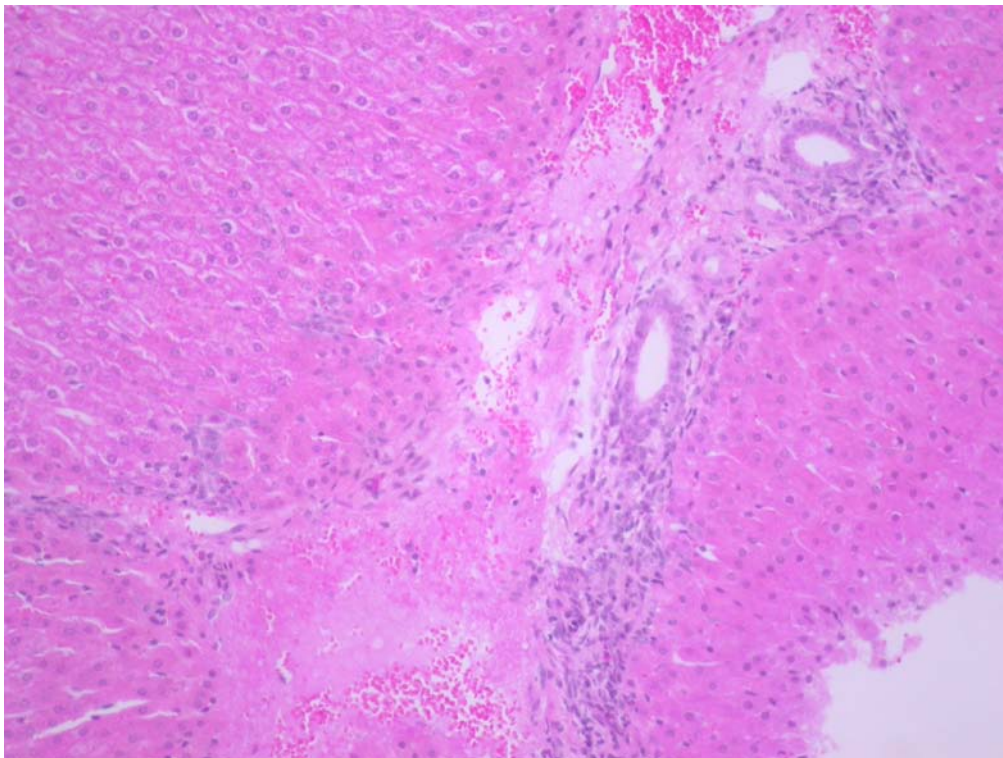


Figura 31. Intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* em ovinos. Ovino 2. Biópsia hepática aos 120 dias do início do experimento. Há proliferação de células de ductos e fibrose periportal moderadas. (HE, obj. 40x).



Figura 32. Intoxicação experimental aguda por *Senecio brasiliensis* em ovinos. Ovino 4. Animal deprimido, em decúbito lateral 22 horas após administração da planta.



Figura 33. Intoxicação experimental aguda por *Senecio brasiliensis* em ovinos. Ovino 4. Observa-se decúbito lateral e movimentos de pedalagem 24 horas após administração da planta.

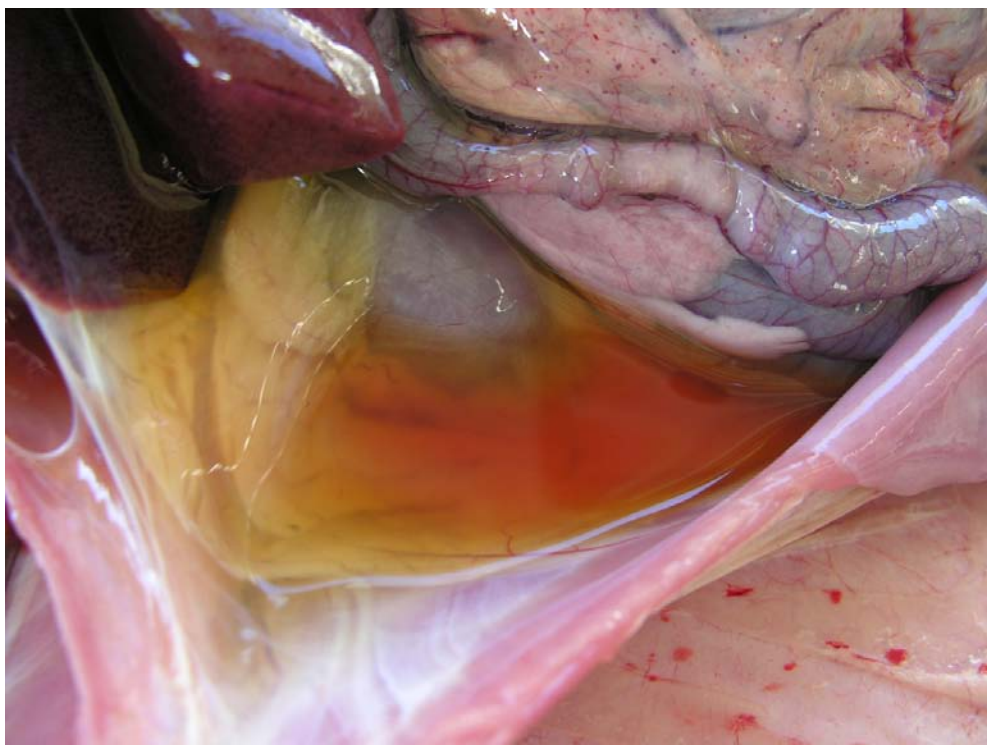


Figura 34 Intoxicação experimental aguda por *Senecio brasiliensis* em ovinos. Ovino 3. Observam-se ascite e petéquias no mesentério.

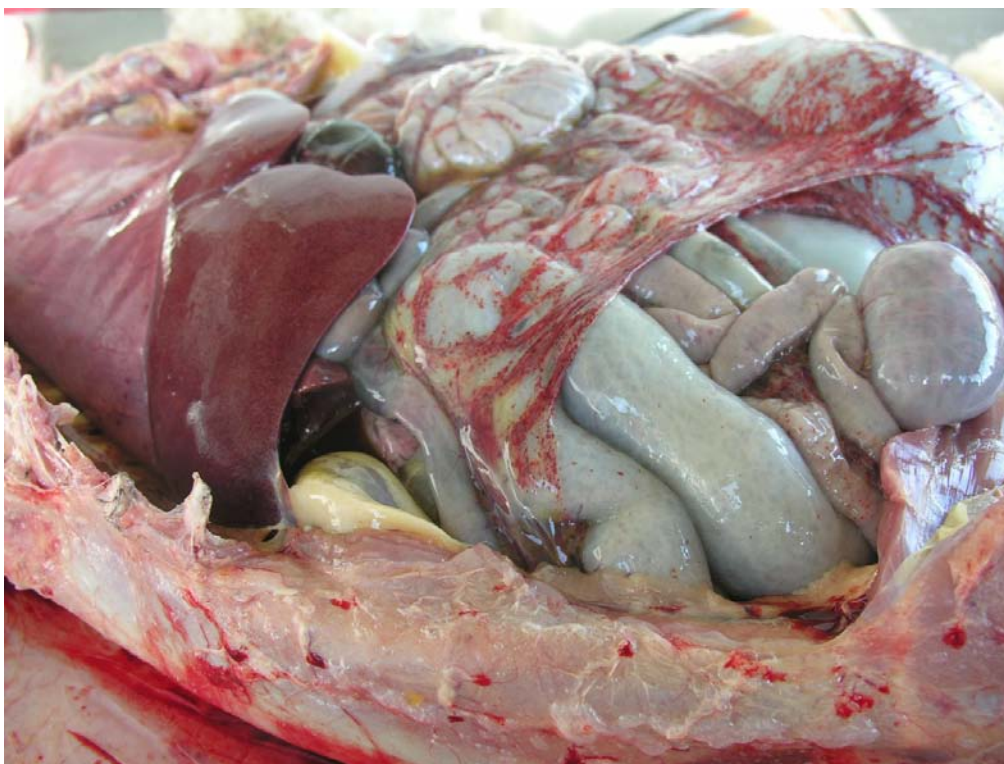


Figura 35 Intoxicação experimental aguda por *Senecio brasiliensis* em ovinos. Ovino 3 Há hemorragias no mesentério e o fígado está escuro.

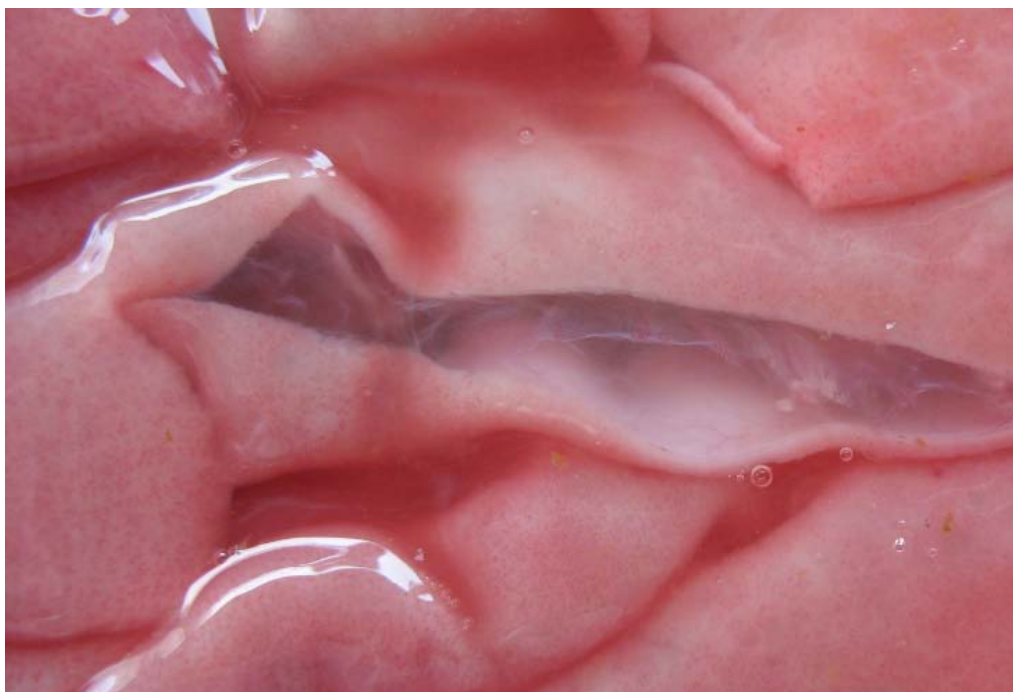


Figura 36. Intoxicação experimental aguda por *Senecio brasiliensis* em ovinos. Ovino 5. Observa-se edema acentuado da submucosa do abomaso

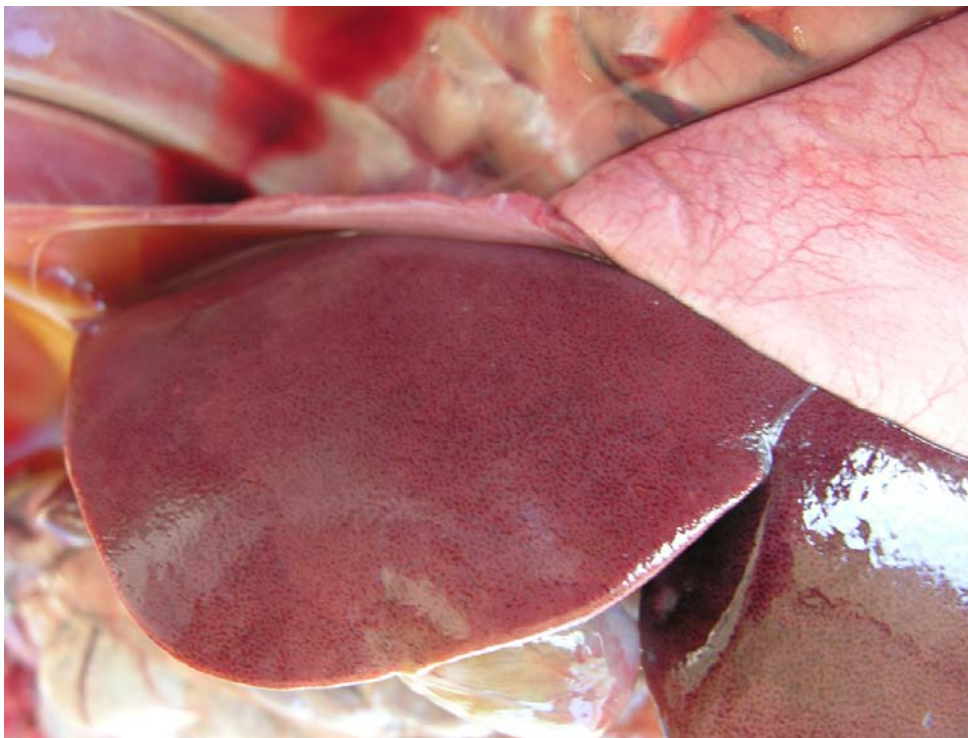


Figura 37. Intoxicação experimental aguda por *Senecio brasiliensis* em ovinos. Ovíno 4. Fígado com acentuação do padrão lobular na superfície capsular.

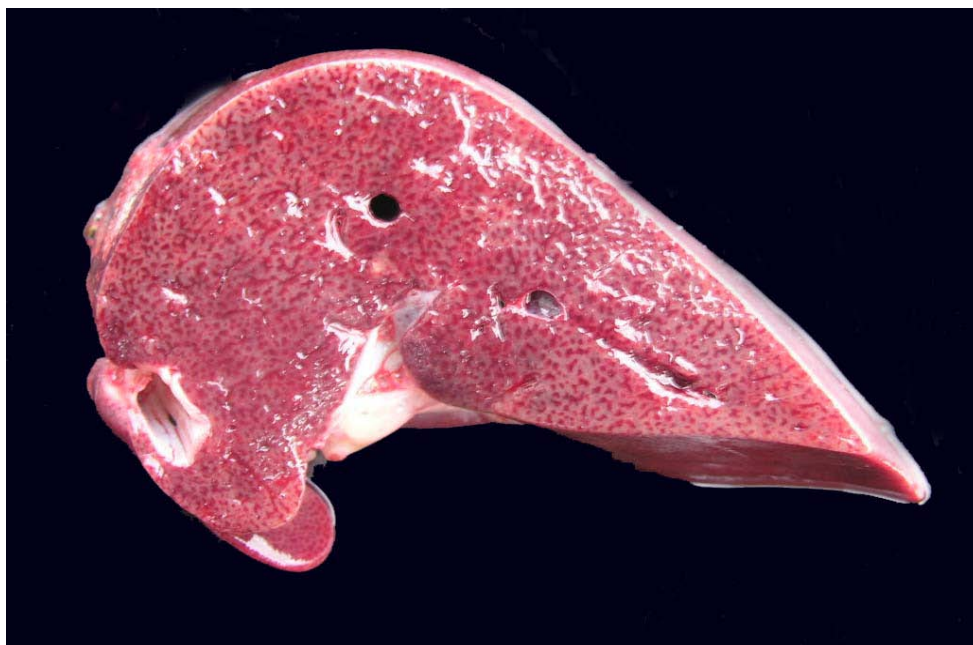


Figura 38. Intoxicação experimental aguda por *Senecio brasiliensis* em ovinos. Ovíno 4. Fígado com acentuação do padrão lobular na superfície de corte

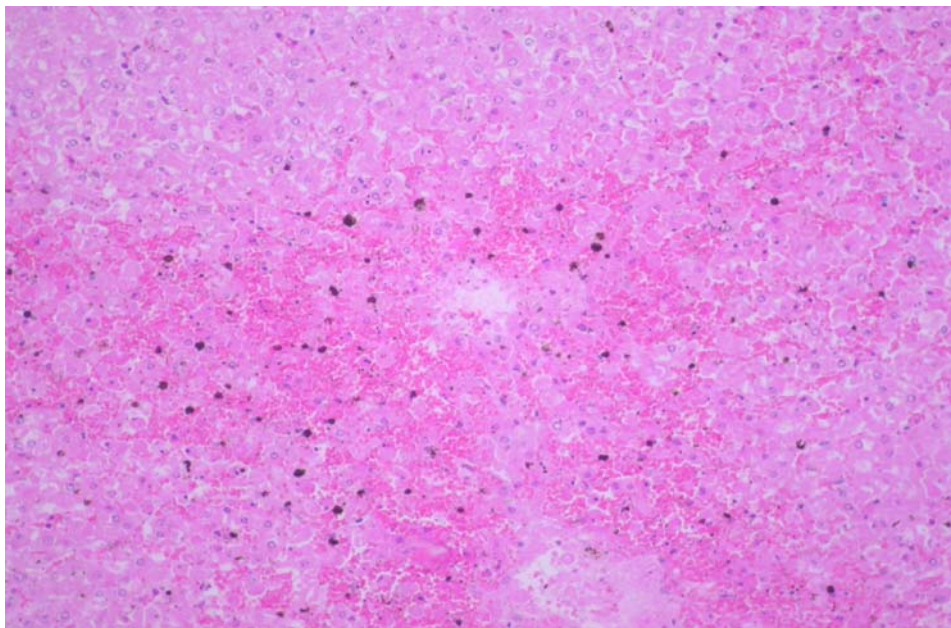


Figura 39. Intoxicação aguda experimental por *Senecio brasiliensis* em ovinos. Ovino 3. Necrose hemorrágica centrolobular. (HE, obj. 20x).

DISCUSSÃO

Os resultados deste trabalho demonstram a diversidade de fatores envolvidos na epidemiologia da intoxicação por *Senecio* spp. em bovinos e ovinos no sul do Rio Grande do Sul.

A maior prevalência da intoxicação ocorreu em anos posteriores a estiagens prolongadas no Rio Grande do Sul, especialmente no ano de 2007 no qual o número de surtos diagnosticados foi o maior de todo o período estudado.

Estudos sobre a ocorrência de alterações climáticas no mundo em decorrência da utilização de combustíveis fósseis e emissão de gases poluentes por grandes indústrias, especialmente em países desenvolvidos, estão na ordem do dia. Tem sido proposto que o aumento da temperatura no globo terrestre, em consequência dessa poluição atmosférica, tem afetado a estação de reprodução de animais e plantas, a distribuição das espécies animais e vegetais, o tamanho de suas populações e a frequência de ocorrência de pragas e surtos de enfermidades (IPCC 2002).

O clima do Rio Grande do Sul, por ser temperado, tem as chuvas bem distribuídas durante todas as estações do ano. De acordo com os dados dos últimos 30 anos, observou-se que a precipitação pluviométrica acumulada diminuiu a partir de 2004 tanto nos meses de inverno como nos meses de verão.

No verão mesmo quando há chuvas regulares a evaporação é maior em função das altas temperaturas e maior incidência solar. No inverno, ao contrário, a evaporação é menor (Julio R. Q. Marques 2009. Comunicação pessoal). Desse modo, a partir de 2004 em função dos menores índices de precipitação a estiagem foi mais acentuada e provavelmente isto influenciou no aumento da concentração de alcalóides pirrolizidínicos nas plantas do gênero

Senecio. Tem sido mencionado que as condições ambientais, como secas e altas temperaturas aumentam o teor de alcaloides pirrolizidínicos presentes nas plantas e, portanto, determinadas espécies de *Senecio* podem ser mais tóxicas dependendo do meio ambiente e de suas variáveis (TOKARNIA et al. 2000, RADOSTITS et al. 2002).

Nesse contexto, durante os anos em que o Rio Grande do Sul sofreu estiagem prolongada, a brotação de *Senecio* spp. permaneceu durante o ano todo nas pastagens e, com isso, provavelmente houve um aumento da disponibilidade da planta com consequente aumento da ingestão da mesma por bovinos e ovinos e aumento da ocorrência de surtos dessa intoxicação. Dados semelhantes foram observados por Driemeier et al (1991) que descreve aumento nos números de surtos em anos posteriores a estiagens no estado do Rio Grande do Sul.

Por outro lado, um estudo sobre a epidemiologia da intoxicação por *Senecio* spp. demonstrou um aumento considerável no número de surtos em bovinos entre 1998 e 2000 na área de influência do LRD (KARAM et al. 2004). Os autores atribuíram esse aumento à diminuição da população de ovinos em alguns municípios da região. Esta diminuição do número de ovinos no Rio Grande do Sul aparentemente é, também, um fator do aumento do número de surtos de 2006 para cá, já que a população de ovinos continuou a cair neste período. (IBGE, 2009). Além disso, aparentemente a escassez de forragem além de favorecer a maior ingestão de *Senecio* spp., pode afetar também o processo de detoxificação dos alcalóides pirrolizidínicos, uma vez que alterações nos níveis protéicos podem interferir na conjugação da glutathione que possui papel importante na rota de eliminação destas substâncias (CHEEKE, 2009).

Além do aumento da prevalência, houve maior frequência de surtos afetando animais com menos de 3 anos de idade, categoria que geralmente não é a mais afetada. Em vários dos surtos estudados, as lesões macroscópicas e histológicas mostraram variações em relação aos padrões clássicos da intoxicação, incluindo a ocorrência de casos subagudos (padrão macroscópico-histológico 4), até então não descritos na região. Tem sido mencionado que embora a seneciose em bovinos apresente manifestações

clínicas agudas, as lesões histológicas do fígado nos casos espontâneos a campo são sempre crônicas, ou mais raramente subagudas (JONHSON 1985).

Os resultados do presente trabalho sugerem que alterações nos fatores climáticos podem, portanto, levar não só ao aumento no número de surtos como também a diferenças na epidemiologia, afetando animais mais jovens, e na patologia da enfermidade. Apesar de que a maior parte das lesões tanto no estudo retrospectivo como no prospectivo foram classificadas nos Padrões macroscópico e histológicos 1, 2 e 3, que se caracterizam por fibrose acentuada, foi observado que padrões histológicos com predominância de megalocitose e proliferação de ductos biliares e menor quantidade de fibrose ocorreu em maior número no estudo prospectivo. Em um trabalho de graduação da fibrose em bovinos intoxicados experimentalmente por *S. brasiliensis* foi demonstrado que a megalocitose e a proliferação de ductos são as primeiras lesões que ocorrem e que a fibrose é diretamente proporcional ao tempo de ingestão da planta (TORRES & COELHO 2008). Nos casos naturais estudados neste trabalho aparentemente os animais que apresentaram as lesões Padrão 4, 5 e 6 provavelmente ingeriram a planta e/ou APs em maior quantidade e em um menor espaço de tempo. O Padrão 2 no qual foi classificado o maior número de casos tanto do estudo retrospectivo como do estudo prospectivo confirma que a lesão de fibrose difusa é a mais comum em casos de seneciose e que provavelmente, nestes casos, os animais tenham ingerido a planta por praticamente toda a vida. Trabalhos de descrição da intoxicação espontânea por *Senecio* mencionam como característica histológica a presença de fibrose acentuada (BARROS et al, 1992; RIET-CORREA et al., 1993). Em uma descrição de 88 casos de seneciose é mencionado que as lesões predominantes eram fibrose difusa (DRIEMEIR et al. 1991).

Os experimentos desenvolvidos em ovinos no presente estudo permitiram comprovar que apesar de mais resistentes à intoxicação do que os bovinos, esta espécie é suscetível à forma aguda da mesma ao ingerir dose única mínima de 90g/kg peso corporal (pc) de planta verde. Por outro lado, a intoxicação espontânea em ovinos por *Senecio* spp descrita neste trabalho demonstra que a ingestão da planta por períodos prolongados de tempo pode provocar a forma crônica da doença. Isso parece lógico uma vez que

difícilmente um ovino chegará a ingerir espontaneamente 90g/kg de pc em um período curto de tempo. Observação semelhante foi realizada em outro trabalho de descrição da intoxicação espontânea por *S. brasiliensis* em ovinos (ILHA et al. 2001). Nos surtos relatados no presente trabalho os ovinos eram nascidos e criados nas propriedades onde ocorreram os surtos. Os animais permaneceram, portanto por longo período em campo nativo com escassez de forragem em decorrência de seca prolongada e com grande quantidade de *Senecio* spp..

Apesar da elevação dos níveis hepáticos de cobre não se observou em nenhum dos casos lesões macroscópicas compatíveis com esta intoxicação, embora em um tenha se observado histologicamente a presença de pigmento castanho nos hepatócitos sugestivo do acúmulo desse mineral. Nos casos descritos por ILHA et al. (2001) alguns ovinos apresentaram crise hemolítica, decorrente da liberação súbita de cobre em função da lesão hepática.

Os sinais clínicos e as lesões observadas eram características das formas crônicas da intoxicação. As taxas de morbidade e mortalidade nos dois casos (12,5% e 6,3%) evidenciam que perdas significativas pela intoxicação por *Senecio* spp. em ovinos podem eventualmente ocorrer na região. Entretanto, em lotações adequadas, é possível a utilização dos ovinos no controle da população de *Senecio* spp., uma vez que os animais que ingerem pequenas quantidades diárias da planta e graças a sua ampla capacidade de detoxificar os alcaloides pirrolizidínicos e por particularidades de sua flora ruminal, eliminam mais facilmente estes alcaloides não sofrendo danos hepáticos (CRAIG 1991).

Experimentalmente foi demonstrado que ovinos se intoxicam de forma crônica com aproximadamente 2000g/kg de pc de planta seca em um período de até oito meses (HOOPER 1978). A intoxicação foi reproduzida experimentalmente, também, com 2,5 g/kg de pc durante 60 dias, 30g/kg de planta seca por 6 dias e 20g/kg de planta seca por 30 dias, correspondentes a doses totais de 4500g/kg, 5400g/kg e 18000g/kg de planta verde, respectivamente (BARROS et al. 1989).

Nos ovinos dos experimentos 1 e 2 que receberam doses menores que 90g/kg em uma única vez ou dose de 100 g/kg fracionadas em 2 e 5 administrações foram observadas lesões histológicas discretas da intoxicação

por alcaloides pirrolizidínicos (Aps), que progrediram até 120 dias após o início do experimento, porém aparentemente estacionaram após 150 dias. Em um experimento realizado com *Senecio erraticus* no Chile, os autores citam alterações semelhantes, e atribuíram este fato a resistência maior dos ovinos à intoxicação (ARAYA et al. 1983).

No presente trabalho foi possível constatar que os ovinos adquirem resistência a intoxicação por *S. brasiliensis* pela ingestão de doses diárias de 15 g/kg por 30 dias e 30g/kg por 10 dias e que essa resistência se mantém sob a ingestão contínua da planta, já que o Ovino 11 morreu ao ser desafiado 15 dias após ter cessado a ingestão da mesma. Provavelmente isto ocorreu porque os hepatócitos durante a injúria provocada pelos alcaloides pirrolizidínicos, ou seja, enquanto estão em contato com estas substâncias, estão sofrendo adaptações benéficas em seu metabolismo de reparação e detoxificação visando restaurar a homeostasia do funcionamento hepático através do maior nível de substratos de enzimas microssomais adaptadas a essas substâncias (CULLEN 2007). Por outro lado, se o estímulo é removido, como o realizado neste trabalho com o Ovino 11, os hepatócitos retornam ao seu estado fisiológico anterior em pouco tempo pelo decréscimo de proteínas específicas e degradação lissosomal das enzimas adaptadas. Em consequência, no momento do desafio o animal não conseguiu detoxificar a carga excessiva de APs ingeridos. Anjos et. al. (2009) em experimentos com sementes de *Crotalaria retusa* em ovinos demonstraram, também, que ovinos adquirem resistência ingerindo pequenas doses da planta, porém estes autores não testaram se a resistência permanece algum tempo após a parada da ingestão da mesma. Por outro lado, as doses de *Crotalaria retusa* que causam intoxicação aguda (4 g/kg de sementes) são muito menores que as doses de *Senecio brasiliensis* utilizadas em nossos experimentos.

Novos experimentos serão realizados para testar por quanto tempo à resistência dos ovinos a intoxicação por *Senecio brasiliensis* permanece após a ingestão de pequenas doses da planta. Isto permitirá utilizar ovinos com segurança em áreas invadidas após terem permanecido sem contato com *Senecio* spp. por determinado período de tempo.

CONCLUSÕES

1. A estiagem prolongada aumentou a prevalência da intoxicação por *Senecio* spp. em bovinos na área de influência do Laboratório Regional de Diagnóstico, UFPel nos anos de 2007-2008.
2. O padrão de lesão histológica mais frequente na seneciose nos surtos estudados neste trabalho foi caracterizado por fibrose difusa.
3. A ocorrência de padrões de lesão com pouca fibrose, incluindo lesões histológicas subagudas ocorreram no período de estiagem prolongada.
4. A administração de folhas e talos verdes de *S.brasiliensis* na dose única de 90g/kg de peso corporal a ovinos é capaz de provocar a forma aguda da intoxicação nesta espécie.
5. Os ovinos adquirem resistência à intoxicação por *Senecio brasiliensis* pela ingestão de doses diárias de 15 g/kg por 30 dias e 30g/kg por 10 dias, mas essa resistência não se mantém após interrupção da ingestão por 15 dias

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAYA, O., HERNANDEZ, J. R., ESPINOZA, A. E., CUBILLOS, V. Serum changes and histologic liver lesions due to experimental ingestion of ragwort (*Senecio erraticus*) in sheep. **Veterinary and Human Toxicology** 1 (25):4-7 1983.
- ANJOS, B. L., NOBRE, V. M. T., DANTAS, A. F. M., MEDEIROS, R. M. T., OLIVEIRA NETO, T. S., MOLINEUX, R. J., RIET-CORREA, F. Poisoning of sheep by seeds of *Crotalaria retusa*: Acquired resistance by continuous administration of low doses. **Toxicon**. 2009.
- BARROS, C. L. S., METZDORF, L. L., PEIXOTO, P. V. Ocorrência de surtos de Intoxicação por *Senecio* spp (compositae) em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira** (7): 101-107, 1987.
- BARROS, C. L. S., METZDORF, L. L., SANTOS, M. N., BARROS, S. S., PEIXOTO, P. V. Intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* (compositae) em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 9(3/4): 55-67. 1989.
- BARROS, C. L. S. DRIEMEIER, D., PILATI, C., BARROS, S. S. *Senecio* spp. Poisoning in Cattle in Southern Brazil **Veterinary and Human Toxicology**. 34(3): 241-246. 1992.
- BASILE, J. R., DINIZ, J. M. F., OKANO, W., SÍRIO, S. M. & LEITE, L. C. Intoxicação por *Senecio* spp. (Compositae) no Sul do Brasil. **Acta Scientia Veterinary** 33 (1): 63-68. 2005.

- BEZERRA, P. S., LORETTI, A. P., ILHA, M. R. S, SOUZA, R. S., BARROS, C. S. L. Intoxicação por *Senecio brasiliensis* em ovinos no Rio Grande do Sul. **Anais do VIII Encontro Nacional de Patologia Veterinária (ENAPAVE)** p. 33, 1997.
- BULL, L. B., CULVENOR, C. C. J. & DICK, A. T.. The pyrrolizidine alkaloids: Their chemistry, pathogenicity and other biological properties. **North-Holland Publish** Amsterdam, 293p. 1968.
- CARRILLO, B. J., CASARO, A., RUKSAN, B., OKADA, K .A. Intoxicación de Bovinos com *Senecio tweediei* **Revista de Medicina Veterinária (Bs As)** (57):205, 1976.
- CHEEKE, P. R. Toxicity and metabolism of pyrrolizidine alkaloids. **Journal of Animal Science** 66:2343-2350. 1988.
- CHEEKE, P. R. Copper, vitamin A, and pyrrolizidine alkaloid interactions in livestock and laboratory animals, p. 175-180. In: James L.F., Keeler R.F., Bailey Jr. E.M., Cheeke P.R. & Hegarty M.P. Proceedings. **3rd International Symposium of Poisonous Plants**, Logan, Utah, 1988. Iowa State University Press, Ames 1992:
- CHEEKE, P. R. Nutritional Implications of Pyrrolizidine Alkaloid Toxicosis Proceedings: **8th International Symposium of Poisonous Plants**, João Pessoa, Paraíba. 2009.
- COONOR, H. E. Poisonous plants in New Zealand. **New Zealand Departament Science Research Keating Govt Printer**. 1977.
- COTRAN, R. S., KUMAR, V., COLLINS, T. **Patologia Estrutural e Funcional** 6^{ed}. Editora Guanabara Koogan 1251 p. 2000.

- CRAIG, A. M., PEARSON, E. G., MEYER, C. & SCHMIT, J. A.. Serum liver enzyme and histopathologic changes in calves with chronic and chronic-delayed *Senecio jacobaea* toxicosis. **American Journal of Veterinary Research**. 52 (12):1969-1978. 1991.
- CULLEN, J. M. Liver, biliary system, and exocrine pancreas. In **Pathologic basis of Veterinary Disease**, eds. MCGAVIN, M. D., ZACHARY, J. F. 4 ed. Mosby Elsevier, St. Louis, Missouri, p.426-446, 2007.
- DOLLAHITE, J. W. The use of Sheep and goats to control *Senecio* poisoning in cattle. **South Veterinary** 25 (3):223-226, 1972.
- DRIEMEIER, D., BARROS, C. S. L., PILATI, C. Seneciose em bovinos. **A hora veterinária** 10 (59) 23-30 1991.
- DRIEMEIER, D. & BARROS, C. S .L. Intoxicação experimental por *Senecio oxyphyllus* (compositae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 12 (1/2):33-42.1992.
- FORSYTH, A. A. **British poisonous plants** 2.ed. Ministry Agriculture Fish and Food. London, p.98-102, 1972.
- GAVA, A. & BARROS, C. S. L. *Senecio* spp. poisoning of horses in southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 17 (1):36-40, 1997.
- HOOPER, P. T. Pyrrolizidine alkaloids poisoning- pathology with particular reference to differences in animal and plant species. In: **Efeccts of poisonous plants of livestock**, ed: .KEELER, R. F, KAMPEN, K.R.V, JAMES, L. Academic Press New York, USA, 1978.
- HURST, E. The Poison Plants of New South Wales. **Poison Plants Committee of New South Wales**. Sidney ,1942.

IBGE Confronto dos resultados dos dados estruturais dos Censos Agropecuários Rio Grande do Sul 1970/2006
http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/defaulttab_censoagro.shtm. Disponível em 30/05/2009.

ILHA, M. R., LORETTI, A. P., BARROS, S. S., BARROS, C. L. S. Intoxicação espontânea por *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) em ovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira** (21): 123-138 p. 2001.

IPCC 2002. **Documento técnico V del Intergovernmental Panel on Climate Change.** www.ipcc.ch/technical-papers/climatechangesbiodiversity. Disponível em 16/12/2007.

JAMES, L. F. Solving poisonous plant problems by a team approach. In: **Colegate plant associated toxins.** DORLING, P.R. (ed.) Cab International. p.1-6. Wallingford, 1994.

JOHNSON, A. E. & MOLINEUX, R. J. Variation in Toxic Pyrrolizidine Alkaloid Content of Plants, associated with site, stage of growth and environmental conditions p.209-218 In: SEAWRIGHT A. A., HEGARTY M.P., JAMES L.F., KEELER R.F. Plant Toxicology. **Proceedings Australia-USA Poisonous Plants Symposium**, Australia, 1985.

KARAM, F. S. C., MÉNDEZ, M. C., JARENKOW, J. A., RIET-CORREA, F. Fenologia de quatro espécies tóxicas de *Senecio* (Asteraceae) na região Sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 22 (1): 33-39. 2002.

KARAM, F. S. C., SOARES, M. P., HARAGUCHI, M., RIET-CORREA, F., MÉNDEZ, M. C. & JARENKOW J. A.. Aspectos epidemiológicos da seneciose na região sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira** (24):191-198. 2004

- KELLERMAN, T. S.; COETZER, J. A. W.; NAUDÉ, T. W. **Plant poisonings and mycotoxicoses of livestock in Southern Africa** 2 ed. Oxford University Press Southern Africa, p.6-13. 2005.
- KELLY, W. R. The Liver and biliary system In: **Pathology of Domestic animals**, eds. JUBB, K. V. F., KENNEDY, P. C. & PALMER, N. 4 ed. Vol. 2, Academic press, Inc, San Diego, California, p.326-401. 1993.
- KINGSBURY, J. M. **Poisonous plants of the United States and Canada**. Englewood Cliffs, N.J. prentice Hall. 1964.
- LANINGAN, G. W. Metabolism of Pyrrolizidine alkaloids in the ovine rumen. **Australian journal of Agriculture research**. (22): 123-130. 1970.
- LONG, H. C. **Plants Poisonous to Livestock** 2 ed. **University Press Cambridge**. 1924.
- MÉNDEZ, M. C., RIET-CORREA, F. & SCHILD, A. L. Intoxicação por *Senecio* spp. (Compositae) em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 7(2): 51-56. 1987.
- MÉNDEZ, M. C. & RIET-CORREA, F. Intoxication by *Senecio tweediei* in cattle in southern Brazil. **Veterinary and Human Toxicology**. 35(1): 55. 1993.
- MÉNDEZ, M. C., RIET-CORREA, F., SCHILD, A. L. & MARTZ, W. Intoxicação experimental por cinco espécies de *Senecio* em bovinos e aves. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 10 (3/4): 63-69. 1990.
- NOBRE, V. M. T., RIET-CORREA, F., BARBOSA FILHO, J. M., DANTAS, A. F. M., TABOSA, I. M., VASCONCELOS, J. J. Intoxicação por *Crotalaria retusa* em eqüinos no semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 24 (3): 132-143. 2004a.

- NOBRE, B. V. M. T., RIET-CORREA, F., DANTAS, A. F. M., TABOSA, I. M., MEDEIROS, R. M. T., BARBOSA FILHO, J. M. Intoxication by *Crotalaria retusa* in ruminants and equidae in the state of Paraíba, northeastern Brazil In: ACAMOVICH T., STEWART C.S., PENNYCOTT T.W.(eds.) **Plant poisoning and related toxins**. CAB International, Glasgow, 2004b.
- NOBRE, V. M. T., DANTAS, A. F. M., RIET-CORREA, F., BARBOSA FILHO, J. M., TABOSA, I. M., VASCONCELOS, J. J. Acute intoxication by *Crotalaria retusa* in sheep. **Toxicon**. (45): 347-352. 2005.
- PEDROSO, P. M. O., RAYMUNDO, D. L., GUAGNINI, F. S., OLIVEIRA, E. C., CORRÊA, A. M. R., COLODEL, E. M. & DRIEMEIER, D. Intoxicações por plantas e substâncias químicas em ruminantes diagnosticadas no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS no período de 1997-2004. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**. (57): 74-75. 2005.
- PILATI, C. & BARROS, C. S. L. Intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) em eqüinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 27 (7): 287-296. 2007.
- RADOSTITS, O. M., GAY, C. C., BLOOD, D. C. & HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9 ed. Guanabara Koogan 1881p. 2002.
- RIET-CORREA, F., MÉNDEZ, M. C., SCHILD A. L. **Intoxicações por Plantas e Micotoxícoses em Animais Domésticos**. Editorial Hemisferio Sul do Brasil v.1, 340p. 1993.
- RIET-CORREA, F., MEDEIROS, R. M. T. Intoxicação por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. (21): 38-42. 2001.

- RIET-CORREA, F., MEDEIROS, R. M. T., TOKARNIA, C. H. & DÖBEREINER, J. Toxic plants for livestock in Brazil: economic impact, toxic species, control measures and public health implications. In: PANTER K.E., WIERENGA T.L. & PFISTER J.A. **Poisonous plants: global research an solutions** (eds.) CAB International, London, UK p: 2-14. 2007 a.
- RIET-CORREA, F., SCHILD, A. L., LEMOS, R. A. A., BORGES, J. R. **Doenças de Ruminantes e Equinos** 3 ed. Vol. 2 Ed. Palotti , Santa Maria, 692p. 2007b.
- RISSI, D. R., RECH, R. R., PIEREZAN, F., GABRIEL, A. L., TROST, M. E., BRUM, J. S., KOMMERS, G. D. & BARROS, C. S. L.. Intoxicações por plantas e micotoxinas associadas a plantas em bovinos no Rio Grande do Sul: 461 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 27 (7): 261-268. 2007.
- SANTOS, J. C. A., RIET-CORREA, F., SIMÕES S. V. D. & BARROS, C. S. L. Patogênese, sinais clínicos e patologia das doenças causadas por plantas hepatotóxicas em ruminantes e eqüinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 28 (1):1-14. 2008.
- SCHILD, A. L., FERREIRA, J. L., LADEIRA, S. R. L., SOARES, M. P., GRECCO, F. B., GUIM, T. N. Doenças diagnosticadas pelo Laboratório regional de Diagnóstico no ano 2006. **Boletim do Laboratório Regional de Diagnóstico**, Editora Universitária, 56p. 2007.
- SEAMAN, J. T. Hepatogenous chronic copper poisoning in sheep associated with grazing *Echium plantagineum*. **Australian Veterinary Journal**. (62): 247. 1985.
- SEAMAN, J. T. Pyrrolizidine alkaloid poisoning of sheep in New South Wales. **Australian Veterinary Journal**. (64): 164-167. 1987.

- SOARES, M. P., RIET-CORREA, F., MÉNDEZ, M. C., ROSA, F. G, CARREIRA, E. C. Controle biológico de *Senecio* spp. com pastoreio de ovinos. **Anais II Reunión Argentina de Patologia Veterinária.** Facultad de Ciencias Veterinárias, Universidad Nacional Del Noroeste. Argentina, 79-80. 2000.
- TOKARNIA, C.H. & DÖBEREINER, J. Experimental poisoning of cattle by *Senecio brasiliensis*. **Pesquisa Veterinária Brasileira.** (4): 39. 1984.
- TOKARNIA, C. H., DÖBEREINER, J. & PEIXOTO, P. V. **Plantas Tóxicas do Brasil.** Editora Helianthus, Rio de Janeiro. 310 p. 2000.
- TORRES M.B.A.M. & COELHO K.I.R. Experimental poisoning by *Senecio brasiliensis* in calves: quantitative and semi-quantitative study on changes in the hepatic extracellular matrix and sinusoidal cells. **Pesquisa Veterinária Brasileira.** 28(1):43-50 2008.