

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA**  
**VETERINÁRIA**  
**PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS**

**TESE**

**Encefalopatia associada à ingestão de *Ipomoea pes caprae*  
(Convolvulaceae) em bovinos no estado do Rio de Janeiro**

**Mariana Sequeira d'Avila**

**2018**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS**

**ENCEFALOPATIA ASSOCIADA À INGESTÃO DE *IPOMOEA PES  
CAPRAE* (CONVOLVULACEAE) EM BOVINOS NO ESTADO DO RIO  
DE JANEIRO**

**MARIANA SEQUEIRA D'AVILA**

*Sob a orientação da professora*  
**Ticiano do Nascimento França**

*e co-orientação dos professores*  
**Flávio Augusto Soares Graça**  
**Paulo Vargas Peixoto**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Medicina Veterinária** no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Patologia Animal.

Seropédica, RJ  
Maio de 2018

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada com os  
dados fornecidos pelo(a) autor(a)

d259e d'Avila, Mariana Sequeira, 1990 Encefalopatia associada à ingestão de Ipomoea pes caprae (Convolvulaceae) em bovinos no estado do Rio de Janeiro / Mariana Sequeira d'Avila. - 2018. 113 f.: il.

Orientadora: Ticiano do Nascimento França.

Coorientador: Paulo Vargas Peixoto.

Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, 2018.

1. síndrome tremorgênica. 2. Ipomoea pes caprae. 3. bovino. 4. planta tóxica. I. França, Ticiano do Nascimento, 1974-, orient. II. Peixoto, Paulo Vargas, 1958-, coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária. IV. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**MARIANA SEQUEIRA D'AVILA**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Medicina Veterinária** no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Patologia Animal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 04/05/2018

---

Ticiania do Nascimento França, MV, Dra.UFRRJ  
Orientadora

---

Aparecida Alves do Nascimento, Biol., Dra. UFRRJ

---

Vivian de Assunção Nogueira, MV, Dra.UFRRJ

---

Michel José Sales Abdalla Helayel, MV, Dr.UFF

---

Luis Armando Calvão Brust, MV, Dr. CESVA

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre ter me guiado e amparado em toda minha jornada. Obrigada por toda luz e sabedoria para seguir em frente. Aos animais, que nos ensinam cada vez mais sobre nós mesmos. Com carinho especial para as que convivem comigo, Luna e Poppins.

À minha avó, Ana Policarpo Sequeira (*in memoriam*), por ter me incentivado de todas as formas a buscar mais conhecimento. Graças a ela conheci um amor extra grande. Obrigada mãe, te amo.

À minha irmã, Elisa Sequeira d'Avila, por ser o grande amor da minha vida. Por ser minha fonte de inspiração e motivação. Por me dar motivos para ser alguém melhor sempre. Te amo. Aos meus pais, Luiz Carlos Nery d'Avila e Virginia Sequeira Moreira, por toda dedicação e esforço em me tornar um ser humano íntegro e decente. Por todos os valores transmitidos, pelos apoios moral e financeiro, além da constante motivação; sou eternamente grata por tudo que me tornei, sem vocês nada disso seria possível. Amo vocês!

A todos os meus familiares, tios e primos, que desde sempre caminham comigo e são responsáveis por quem me tornei. Obrigada por serem a melhor base que alguém poderia ter. À Telma de Carvalho Silva, por fazer da nossa casa uma extensão do seu próprio lar. Obrigada por fazer parte da nossa família!

À minha orientadora e professora Ticiano do Nascimento França, pelo apoio constante no desenvolvimento desse trabalho e ensinamentos sempre muito valiosos. Ao extraordinário patologista e professor Paulo Vargas Peixoto, exemplo de profissional. Obrigada pelo conhecimento que sempre nos passa com toda paciência e humildade. Obrigada por ser nosso espelho.

Aos professores de patologia Carlos Hubinger Tokarnia (*in memoriam*), Vivian de Assunção, Marilene de Farias Brito e demais professores, pelos ensinamentos durante toda caminhada, fundamentais para meu crescimento profissional e interesse pela área. Ao professor Flávio Augusto Soares Graça por todo apoio e orientação, bem como pela sugestão do tema desse trabalho.

A todos os meus amigos do laboratório de Anatomia Patológica da UFRRJ, em especial André Marandola dos Santos, Samay Zillmann, Ana Paula Pires, Gabriela Cid, Letícia Pinto, Mariana Oliveira e Juliana Rocha, com quem tive uma convivência mais estreita. Obrigada pela ajuda na realização deste trabalho e pela alegria de conviver e trabalhar com pessoas tão especiais. A todos os meus outros amigos, em especial Taína Gonçalves, Lucas Moura, Thais Cruz de Paulo, Fernanda Cardoso Costa Rego e Caroline Belchior, pela preocupação constante, apoio e carinho durante toda essa jornada. Vocês são fundamentais para mim.

A CAPES pela condição financeira fornecida para execução desse trabalho.

## RESUMO

D'AVILA, Mariana Sequeira. **Encefalopatia associada à ingestão de *Ipomoea pes caprae* (Convolvulaceae) em bovinos no estado do Rio de Janeiro**. 2018. 101p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

A intoxicação por plantas tóxicas de interesse agropecuário está entre as três causas de morte mais importantes em bovinos adultos no Brasil. O grupo das plantas que causam alterações nervosas, muito bem representada no país, encerra mais de trinta espécies tóxicas, entre as quais do gênero *Ipomoea*, amplamente distribuídas no território brasileiro. As plantas tóxicas desse gênero podem causar “doenças do armazenamento” ou síndrome tremorgênica. Descrevem-se, pela primeira vez, a intoxicação natural e reprodução experimental por *Ipomoea pes caprae* em bovinos, verificada no norte do Estado do Rio de Janeiro. Foram observados episódios de intensa ataxia locomotora, postura anormal seguida de queda, incapacidade de levantar-se, tremores, contrações e espasticidades musculares nos membros, intensificados após estimulação ou a simples aproximação. Nos animais afetados a mais tempo, os sintomas tornavam-se permanentes. À necropsia havia apenas significativa quantidade de folhas e pecíolos da planta no rúmen. O estudo histopatológico evidenciou lesões neuronais degenerativas e necróticas principalmente nos neurônios de Purkinje. As técnicas de histoquímica (impregnação argêntica pelo método Bielschowsky), imunohistoquímica (anticorpos anti-calbindina, anti-sinaptofisina, anti-príon) e a análise ultraestrutural ratificaram esses achados. A avaliação lectinohistoquímica não evidenciou armazenamento nos neurônios dos animais intoxicados por *Ipomoea pes caprae*. No bezerro, intoxicado experimentalmente, verificaram-se sintomas semelhantes, entretanto, com a interrupção do fornecimento da planta no 28º dia, os sintomas desapareceram após quatro dias.

**Palavras chaves:** síndrome tremorgênica, *Ipomea pes caprae*, bovino

## ABSTRACT

D'AVILA, Mariana Sequeira. *Ipomoea pes caprae* (Convolvulaceae) associated encephalopathy in cattle of Rio de Janeiro. 2018. 101p. Thesis (Doctor Science in Veterinary Medicine, Animal Pathology). Instituto de Veterinária, Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

Poisonous plants are responsible for significant death in adult cattle from Brazil. Plants affecting the central nervous system, widely spread throughout the country, comprise over thirty poisonous species - notably the *Ipomoea* group, with two distinguish clinic syndromes: tremorgenic syndrome and "lysosomal storage diseases". We describe, for the first time, natural and experimental *Ipomoea pes caprae* poisoning in cattle from a herd in the northside of Rio de Janeiro, Brazil. Clinical signs included episodes of intense ataxia, abnormal posture followed by falling, recurrent dorsal recumbence, and muscular tremor, contraction and spasticity, particularly in the limbs, intensified by movement and forthcoming. Cattles affected longer failed to recover. Grossly, a substantial amount of leaves and petioles was found in the rumen. Histopathology showed degenerated and necrotic neuronal changes, mostly in cerebellar Purkinje cells. Bielschowsky silver stain, Immunohistochemistry with anti-calbindin, anti-synaptophysin, and anti-prion antibodies, and ultrastructural techniques confirmed those findings. Lectin histochemistry evaluation failed to demonstrate lysosomal storage in the affected neurons. The experimental poisoned calf displayed clinical signs similar to the natural case. In the 28<sup>o</sup> day of the experiment, the plant ministration was suspended and the calf recovered within four days.

**Key words:** tremorgenic syndrome, *Ipomoea pes caprae*, cattle

## ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA	
<b>Figura 1</b>	Observar a semelhança entre <i>Ipomoea pes caprae</i> (A) e <i>Ipomoea asarifolia</i> (B). O que diferencia essas espécies é a morfologia da folha; <i>I. pes caprae</i> apresenta a folha com ápice profundamente emarginado ou em 2 lobos e em posição vertical em relação ao solo enquanto <i>I. asarifolia</i> tem a folha com ápice pouco emarginado, ou não, e disposta paralela em relação ao solo (em detalhe na foto B). (A) Ilha da Convivencia, São Francisco do Itabapoana, RJ. (B) Manaus, foto do acervo do Professor Carlos Tokarnia.	15
<b>Figura 2</b>	Área invadida por <i>Ipomoea pes caprae</i> , Ilha da Convivência, São Francisco do Itabapoana, RJ. Notar característica rasteira da planta.	39
<b>Figura 3</b>	Flor da <i>Ipomoea pes caprae</i> , Ilha da Convivência, Município de São Francisco do Itabapoana, RJ.	39
<b>Figura 4</b>	Folha da <i>Ipomoea pes caprae</i> , Ilha da Convivência, São Francisco do Itabapoana, RJ. Notar caule (seta) verde, pecíolo (cabeça de seta) avermelhado e folhas alternadas e simples, com limbo (estrela) apresentando formato variável, oblongo, oblongo com base auriculada ou ovalado, sempre com o ápice recortado em dois lobos.	40
<b>Figura 5</b>	Caule da <i>Ipomoea pes caprae</i> , Ilha da Convivência, São Francisco do Itabapoana, RJ. Notar a lactescência da planta.	40
<b>Figura 6</b>	Bovino 1. Intoxicação natural por <i>Ipomoea pes caprae</i> . Animal com marcada incoordenação motora.	41
<b>Figura 7</b>	Bovino 1. Intoxicação natural por <i>Ipomoea pes caprae</i> . Animal em decúbito lateral após queda ocasionada por tremores.	41
<b>Figura 8</b>	Bovino 2. Intoxicação natural por <i>Ipomoea pes caprae</i> . Animal em decúbito esternal com dificuldade de se levantar após queda.	42
<b>Figura 9</b>	Bovino 2. Intoxicação natural por <i>Ipomoea pes caprae</i> . Na tentativa de se levantar, o animal o fazia apenas com membros anteriores.	42
<b>Figura 10</b>	Bovino 3. Intoxicação natural por <i>Ipomoea pes caprae</i> . Animal com desequilíbrio, mantendo abdução de membros posteriores.	43
<b>Figura 11</b>	Bovino 3. Intoxicação natural por <i>Ipomoea pes caprae</i> . Animal (pelagem castanha) com marcha incoordenada.	43
<b>Figura 12</b>	Bovino 3. Cerebelo. Neurônio de Purkinje com ausência da substância de Nissl e citoplasma levemente mais eosinofílico (alterações degenerativas) (seta). 63x. H.E. Foto cortesia do professor Aníbal Armien, Universidade de Minnesota (UMN).	46
<b>Figura 13</b>	Bovino 1. Cerebelo. Neurônio de Purkinje com citoplasma eosinofílico e com cromatólise (necrose neuronal) (seta). 40x. H.E.	46
<b>Figura 14</b>	Bovino 1. Neurônio com citoplasma eosinofílico e vacuolizado (necrose neuronal). 63x. H.E.	47
<b>Figura 15</b>	Bovino 2. Células de Golgi com citoplasma eosinofílico, com cromatólise e, por vezes, com vacúolos intracitoplasmáticos (neurônios necróticos) (setas). 20x. H.E.	47
<b>Figura 16</b>	Bovino 2. Neurônios com citoplasma eosinofílico, com cromatólise e, por vezes, com vacúolos intracitoplasmáticos (neurônios necróticos). 40x. H.E.	48
<b>Figura 17</b>	Bovino 3. Proliferação astrocitária (astrogliose) e, por vezes, ao redor de neurônios (satelitose) (seta). 40x. H.E.	48
<b>Figura 18</b>	Bovino 3. Astrogliose e tumefação de alguns astrócitos (setas). 63x.	49



	H.E.	
<b>Figura 19</b>	Bovino 3. Neurônios de Purkinje com axônio dilatado e necrótico (esferóide axonal) e coloração mais escurecida (seta). Histoquímica-Bielschowsky, 40x. Foto cortesia do professor Aníbal Armién, UMN.	54
<b>Figura 20</b>	Bovino 3. Vacuolização dos dendritos (seta) e do corpo celular (cabeça de seta) dos neurônios de Purkinje. Imunohistoquímica-Calbindina, 40x. Foto cortesia do professor Aníbal Armién, UMN.	54
<b>Figura 21</b>	Bovino 3. Vacuolização dos dendritos (seta) de neurônios de Purkinje na camada molecular (quadrado). Limites dos dendritos das células de Purkinje (seta) e sinapses aferentes (cabeça de seta). Imunohistoquímica - Sinaptofisina, 40x. Foto cortesia do professor Aníbal Armién, UMN.	55
<b>Figura 22</b>	Animal intoxicado por <i>Sida carpinifolia</i> . Vacúolos intracitoplasmáticos com armazenamento e bordas marcadas (seta) em neurônios de Purkinje. Lectinohistoquímica - sWGA, 40x.	55
<b>Figura 23</b>	Bovino 1. Neurônios de Purkinje sem marcação (seta). Lectinohistoquímica- sWGA, 40x.	56
<b>Figura 24</b>	Animal intoxicado por <i>Sida carpinifolia</i> . Vacúolos intracitoplasmáticos com armazenamento e bordas marcadas (seta) em neurônios de Purkinje. Lectinohistoquímica - WGA, 40x.	56
<b>Figura 25</b>	Bovino 1. Neurônios de Purkinje com marcação sutil no citoplasma, levemente granular (seta). Lectinohistoquímica - WGA, 40x.	57
<b>Figura 26</b>	Animal intoxicado por <i>Sida carpinifolia</i> . Vacúolos intracitoplasmáticos com armazenamento e bordas marcadas (seta), em neurônios de Purkinje. Lectinohistoquímica- Con-A, 40x.	57
<b>Figura 27</b>	Bovino 1. Neurônios de Purkinje com marcação sutil no citoplasma, levemente granular (seta). Lectinohistoquímica - Con-A, 40x.	58
<b>Figura 28</b>	Bovino 1. Parte do dendrito do neurônio de Purkinje mantida (seta), interface de uma porção normal e uma porção lisada (quadrado) e área vacuolizada dessa mesma estrutura (estrela). Microscopia eletrônica, 4000x. Foto cortesia do professor Aníbal Armién, UMN.	58
<b>Figura 29</b>	Bovino 1. Vacúolo em uma porção do dendrito do neurônio de Purkinje (estrela) com desintegração do citoesqueleto (microtúbulos e filamentos intermediários) (seta preta) e em algumas áreas essas estruturas já estão desintegradas (seta branca). Cabeça de seta sinaliza mitocôndria e cabeça de seta branca sinaliza corpo lamelar (RER). Microscopia eletrônica, 4000x. Foto cortesia do professor Aníbal Armién, UMN.	59
<b>Figura 30</b>	Bovino 1. Vacúolo em uma porção do dendrito do neurônio de Purkinje (estrela) com fragmentos de dendrito (seta preta). Microscopia eletrônica, 4000x. Foto cortesia do professor Aníbal Armién, UMN.	59

## ÍNDICE DE QUADROS

	PÁGINA
<b>Quadro 1</b> Plantas tóxicas de interesse pecuário que causam perturbações nervosas.	5
<b>Quadro 2</b> Especificidade primária de sacarídeo para cada lectina.	21
<b>Quadro 3</b> Alterações histológicas do Sistema Nervoso Central dos bovinos intoxicados.	45
<b>Quadro 4</b> Lectinohistoquímica do animal sem lesão e de animais intoxicados por <i>Ipomoea pes caprae</i> , <i>Ipomoea asarifolia</i> e <i>Sida carpinifolia</i> .	52
<b>Quadro 5</b> Doenças que podem cursar com sintomatologia de tremores e incoordenação.	95

## LISTA DE ABREVIACOES

<b>A.P.</b>	Alcalides pirrolizidínicos
<b>A.T.P.</b>	Adenosina trifosfato
<b>BoHV</b>	Herpesvírus bovino
<b>BoHV-5</b>	Herpesvírus bovino-5
<b>DAB</b>	Diaminobenzidina
<b>DBA</b>	<i>Dolichos biflorus</i>
<b>DP</b>	Doença de Parkinson
<b>E.H.</b>	Encefalopatia hepática
<b>E.U.A.</b>	Estados Unidos da Amrica
<b>F.C.M.</b>	Febre Catarral Maligna
<b>Fig.</b>	Figura
<b>Frag.</b>	Fragmento
<b>GABA</b>	cido gama-aminobutrico
<b>H.R.T.</b>	Head Raising Test
<b>H<sub>2</sub>S</b>	Sulfeto de Hidrognio
<b>IHQ</b>	Imunohistoquímica
<b>LCA</b>	<i>Lens culinares</i>
<b>M.E.T.</b>	Microscopia Eletrnica de Transmissão
<b>NMDA</b>	N-metil D-Aspartato
<b>Obj.</b>	Objetiva
<b>Pb</b>	Chumbo
<b>PBS</b>	Phosphate Buffered Solution
<b>P.E.</b>	Pernambuco
<b>P.E.M.</b>	Polioencefalomalácia
<b>PNA</b>	<i>Arachis hypogaea</i>
<b>PSA</b>	<i>Pisum sativum</i>
<b>pH</b>	Potencial Hidrogeninico
<b>PHA-E</b>	<i>Phaseolus vulogaris</i>
<b>RCA</b>	<i>Ricinus communis</i> -1
<b>R.E.R.</b>	Retculo Endoplasmtico Rugoso
<b>R.J.</b>	Rio de Janeiro
<b>SB</b>	Substncia branca
<b>SBA</b>	<i>Glycine max</i>
<b>SNC</b>	Sistema Nervoso Central
<b>SRD</b>	Sem Raça Definida
<b>sWGA</b>	Succinyl- <i>Triticum vulgare</i>
<b>TC</b>	Temperatura em Graus Celsius
<b>UEA-1</b>	<i>Ulex europaeus</i> -1
<b>UMN</b>	Universidade de Minnesota
<b>UENF</b>	Universidade Estadual do Norte Fluminense
<b>UFMG</b>	Universidade Federal de Campina Grande
<b>UFMS</b>	Universidade Federal do Mato Grosso do Sul
<b>UFRGS</b>	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
<b>UFRRJ</b>	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
<b>UFMS</b>	Universidade Federal de Santa Maria
<b>UNESP</b>	Universidade Estadual de São Paulo
<b>WGA</b>	<i>Triticum vulgare</i>

## SUMÁRIO

	PÁGINA
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	1
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b>	3
2.1 Ocorrência de doenças do sistema nervoso central em bovinos no Brasil	3
2.1.1 Plantas tóxicas que afetam o sistema nervoso central	4
2.2 Intoxicação por plantas que causam perturbações nervosas em ruminantes	6
2.2.1 Plantas que causam síndrome tremorgênica	6
2.2.1.1 Outras enfermidades que cursam com quadro tremorgênico	8
2.2.1.1.1 Micotoxicoses	8
2.2.1.2 Patogênese das afecções tremorgênicas	11
2.2.2 <i>Ipomoea pes caprae</i>	14
2.2.3 Plantas que causam doença do armazenamento	16
2.2.3.1 Plantas que causam glicoproteinose	16
2.2.3.1.1 Lectinohistoquímica e análise ultraestrutural em glicoproteinose	20
2.2.3.2 Plantas que causam neuropilidose	22
2.2.3.2.1 Lectinohistoquímica e análise ultraestrutural em neuropilidose	23
2.2.4 Plantas que causam ceróide-lipofuscinose	23
2.2.5 Plantas que causam lesões localizadas no SNC	23
2.2.6 Plantas com outras ações neurológicas	25
2.2.7 Plantas que contêm tiaminase	28
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b>	29
3.1 Locais de execução do trabalho	29
3.2 Visitas à propriedade de ocorrência do surto	29
3.3 Identificação botânica da planta	29
3.4 Animais	30
3.4.1 Intoxicação espontânea	30
3.4.1.1 Acompanhamento clínico	30
3.4.1.2 Necropsia e histopatologia	30
3.4.1.3 Histoquímica e imunohistoquímica	31
3.4.1.4 Avaliação lectinohistoquímica	33
3.4.2 Reprodução experimental	34
3.4.2.1 Acompanhamento clínico	34
<b>4 RESULTADOS</b>	36
4.1 Animais intoxicados naturalmente	36
4.1.1 Histórico e Anamnese	36
4.1.2 Sinais clínicos	37
4.1.3 Achados macroscópicos	44
4.1.4 Achados microscópicos	44
4.1.5 Histoquímica e imunohistoquímica	50
4.1.6 Análise lectinohistoquímica	50
4.2. Animal intoxicado experimentalmente	60
<b>5 DISCUSSÃO</b>	61
<b>6 CONCLUSÕES</b>	69

<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	70
<b>ANEXOS</b>	86
<b>A-</b> Enfermidades do SNC de bovinos frequentes no Brasil que podem eventualmente causar quadro clínico semelhante	
. Plantas que podem causar encefalopatia hepática	
. Raiva	
. Botulismo	
. Polioencefalomalácia (PEM)	
. Meningoencefalite por herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5)	
<b>B-</b> Ficha de exame neurológico	97

## 1 INTRODUÇÃO

Devido à grande extensão territorial do Brasil, na maioria dos estabelecimentos os animais de produção são criados em pastagens nativas ou cultivadas, em sistema extensivo ou semi extensivo. Essa característica promove maior acesso dos animais às plantas tóxicas e explica, em parte, o número crescente de registros de surtos de intoxicações por plantas em animais de produção no país. O impacto negativo causado pelas intoxicações por plantas na pecuária justifica o desenvolvimento nas últimas décadas de um grande número de pesquisas para caracterizar a epidemiologia e desenvolver tecnologias de controle e profilaxia dessas intoxicações (PESSOA; MEDEIROS; RIET-CORREA, 2013).

As perdas econômicas indiretas causadas pelas intoxicações por plantas, que incluem os custos para controlar as plantas tóxicas nas pastagens, as medidas de manejo para evitar as intoxicações como a utilização de cercas e o pastoreio alternativo, a redução do valor da forragem devido ao atraso na sua utilização, a redução do valor da terra, a compra de gado para substituir os animais mortos, e os gastos associados ao diagnóstico das intoxicações e ao tratamento dos animais afetados (RIET-CORREA; MENDEZ; SCHILD, 1993; JAMES, 1994), são difíceis de estimar com precisão, contudo as perdas diretas causadas pela morte dos animais são facilmente estimáveis através da análise dos dados elaborados por laboratórios de diagnóstico veterinário, nas suas respectivas áreas de abrangência (PESSOA; MEDEIROS; RIET-CORREA, 2013).

O efetivo do rebanho de bovinos no Brasil em 2012 foi estimado em 211.279 milhões de cabeças (BRASIL, 2012) e pelo menos 5% morrem anualmente por diferentes causas (PESSOA; MEDEIROS; RIET-CORREA, 2013). Considerando os dados dos laboratórios de diagnóstico de diferentes regiões, entre 7,4% e 15,83% dessas mortes são causadas por plantas tóxicas (RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001; PEDROSO et al., 2007; RISSI et al., 2007; CASAGRANDE et al., 2008; ASSIS et al., 2010).

Diversos fatores podem ser destacados como desencadeadores ou facilitadores das intoxicações por plantas, como a palatabilidade, fome, brotação após as primeiras chuvas, variações de toxicidade, susceptibilidade/resistência, transporte (PESSOA; MEDEIROS; RIET-CORREA, 2013), sede (SCHUSTER, 1978) e facilitação social (RIET-CORREA; BEZERRA; MEDEIROS; 2011).

Dentre as plantas tóxicas de interesse agropecuário, o grupo das que causam alterações nervosas é bem representado no Brasil e apresenta aspectos clínico-patológicos interessantes. Elas podem ser divididas em 5 grupos distintos: plantas que causam doença do

armazenamento, que causam síndrome tremorgênica, que causam lesões localizadas no Sistema nervoso central (SNC), que contem tiaminase e com outras ações neurológicas (TOKARNIA et al., 2012). Este grupo inclui mais de trinta espécies de plantas tóxicas – dentre as quais as do gênero *Ipomoea*, que são amplamente distribuídas no território brasileiro.

Este estudo tem como principal objetivo descrever os aspectos epidemiológicos e clínico-patológicos da intoxicação espontânea por *Ipomoea pes caprae* – planta amplamente distribuída no litoral brasileiro e ainda não descrita como tóxica (TOKARNIA et al., 2012) – em bovinos no norte do Estado do Rio de Janeiro. Em adição, tentar compreender a patogênese desta intoxicação através de estudos lectino-histoquímicos e ultramicroscópicos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Ocorrência de doenças do sistema nervoso central em bovinos no Brasil

As patologias que acometem o Sistema nervoso central (SNC) de bovinos constituem um grupo importante de doenças. Estima-se que a raiva bovina na América Latina cause prejuízos anuais de centenas de milhões de dólares, provocados pela morte de milhares de cabeças, além dos gastos indiretos que podem ocorrer com a vacinação de milhões de bovinos e inúmeros tratamentos pós-exposição (sorovacinação) de pessoas que mantiveram contato com animal suspeito (BRASIL, 2009). Como os distúrbios neurológicos podem ser comuns a mais de uma doença, é de extrema importância o conhecimento das principais patologias que afetam o SNC de bovinos e a prevalência destas em cada região, bem como uma criteriosa avaliação epidemiológica, de alterações macro e microscópicas e, por vezes, técnicas mais específicas como imunohistoquímica para o diagnóstico preciso.

Um estudo realizado no sul do Brasil pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) diagnosticou, no período de janeiro de 1964 a dezembro de 1999, 305 bovinos com doenças neurológicas. As principais foram raiva (151 animais), *status spongiosus* por *Senecio* spp (32 animais), babesiose (17 animais) e meningoencefalite necrosante por herpesvírus bovino (BoHV) tipo 5 (14 animais) (SANCHES et al., 2000).

De março de 2009 a agosto de 2011 foram acompanhados 96 casos de bovinos no estado do Paraná com alterações neurológicas e, segundo a etiologia, as doenças por causas tóxicas (50%) e causas inflamatórias/infecciosas (31,2%) foram mais prevalentes. Dentre as intoxicações, 58,3% foram causadas por plantas, tais quais as causadas por plantas que levam a lesões musculoesqueléticas *Senna occidentalis* e *S. obtusifolia* (15,58%) e as que causam síndrome tremorgênica *Cynodon brasiliensis* e *Cynodon nlemfuensis* (12,5%). Botulismo foi responsável por 12,5%. Das doenças de origem inflamatória/infecciosa, a raiva (36,66%) e a encefalite por BoHV tipo 5 (43,33%) foram as mais comumente encontradas (AZAMBUJA et al., 2011).

A avaliação de materiais de bovinos provenientes das regiões Centro-oeste e Sudeste do Brasil, principalmente nos estados de Mato Grosso do Sul e São Paulo, no período de janeiro de 2000 à dezembro de 2003 realizada pela Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS) e Universidade Estadual de São Paulo (UNESP) evidenciaram que 82% dos diagnósticos realizados corresponderam a enfermidades que causam sinais clínicos de distúrbios nervosos. A raiva, o botulismo, a polioencefalomalacia e a meningoencefalite por



BoHV tipo 5 foram as enfermidades diagnosticadas com maior prevalência (LEMOS, 2005). Um estudo retrospectivo realizado pela UFMS analisando os casos exclusivamente do Mato Grosso do Sul no período de janeiro de 2008 a dezembro de 2012 evidenciou resultado semelhante; 341 diagnósticos corresponderam a doenças com sintomatologia nervosa, sendo as principais botulismo (102 animais), raiva (100 animais), polioencefalomalácia (44 animais) e encefalite por BoHV (33 animais) (RIBAS et al., 2013).

Na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), na Paraíba, realizou-se o diagnóstico de 111 bovinos com sintomatologia neurológica no período de janeiro de 2000 à dezembro de 2008. A doença mais diagnosticada foi a raiva (54 casos), seguida por abscessos no sistema nervoso (8 casos), febre catarral maligna (FCM) (7 casos) e botulismo (7 casos) (GALIZA et al., 2010)

### **2.1.1 Plantas tóxicas que afetam o sistema nervoso central**

Esse grupo é bem representado no país, contudo não são muito importantes em relação aos prejuízos à pecuária, porém por induzirem enfermidades com aspectos clínico-patológicos interessantes, muitas delas têm sido bem estudadas (TOKARNIA et al., 2012), além da importância de realizar o diagnóstico diferencial com doenças neurológicas de bovinos que causam maior impacto econômico.

Em um estudo realizado em 17 municípios da região do Seridó Ocidental e Oriental do Rio Grande do Norte, 82 pessoas, entre produtores e técnicos foram entrevistadas para determinar a ocorrência de diferentes intoxicações por plantas e, de acordo com esse inquérito, a intoxicação por *Ipomoea asarifolia* foi uma das mais importantes, causando sintomatologia neurológica em bovinos (23 produtores relataram) e pequenos ruminantes. Outras intoxicações que cursam com alterações no SNC nessa espécie foram causadas por *Prosopis juliflora* (1 produtor relatou rebanho com 200 bovinos, 8 adoeceram), *Ricinus communis* (1 entrevistado relatou rebanho com 180 bovinos, 15 adoeceram) e *Marsdenia* spp. (6 surtos relatados) (SILVA et al., 2006). Na Paraíba foi realizado um levantamento dos surtos de intoxicações por plantas em ruminantes e equinos diagnosticados na UFCG, no período de 2000 a 2007, e dos 284 casos diagnosticados de bovinos, 21 foram por plantas tóxicas; *Marsdenia* sp. (um surto) e *Prosopis juliflora* (três surtos) foram às que causaram alterações nervosas em bovinos citadas no trabalho (ASSIS et al., 2010). Em um estudo sobre as plantas tóxicas para ruminantes e equídeos na Mesorregião Norte do Piauí foram feitas 71 entrevistas

e a única planta citada que causou perturbações nervosas em bovinos foi *Ricinus communis* (mencionado por 3 entrevistados) (MELLO et al., 2010)

Casos naturais de intoxicação por plantas tóxicas no período de 1996 a 2005 diagnosticados na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) foram descritos por Pedroso et al. (2007); foram necropsiados 567 bovinos, e destes 43 morreram por intoxicação por plantas. As plantas hepatotóxicas do gênero *Senecio* spp. foram atribuídas à 27 mortes, e relatou-se incoordenação e agressividade em alguns animais. Espongiose no SNC foi observada em 8 bovinos (8/27). A única planta que causou lesão neurológica em bovinos de forma direta foi a *Sida carpinifolia* (1 caso). Um levantamento da UFSM de necropsias de bovinos realizadas entre 1990 e 2005 evidenciou 461 mortes por plantas tóxicas, sendo *Solanum fastigiatum* a única neurotóxica citada, responsável por 23 casos. Cabe ressaltar que a maior parte das intoxicações foram provocadas por *Senecio* spp (256 casos) e alterações clínicas compatíveis com distúrbio neurológico como tremores, incoordenação e agressividade foram observados, caracterizando a encefalopatia hepática (RISSI et al., 2007).

Tokarnia e colaboradores (2012) agruparam as plantas que causam perturbações nervosas em 5 grupos distintos: plantas que causam doença do armazenamento (dentre elas as que causam glicoproteinose, neurolipidose e ceroide-lipofuscinosose), síndrome tremorgênica, lesões localizadas no SNC, que contêm tiaminase e com outras alterações neurológicas (quadro 1).

Quadro 1. Plantas tóxicas de interesse pecuário que causam perturbações nervosas				
	Grupo de plantas	Espécies de plantas	Principais espécies acometidas	Regiões em que a planta é encontrada
Doenças do armazenamento	Glicoproteinose	<i>Ipomoea carnea</i> subsp <i>fistulosa</i>	<b>Bovinos</b> , ovinos e caprinos	Amazônia (especialmente no Pará), Nordeste e Pantanal de Mato Grosso
		<i>Ipomoea riedelii</i>	Caprinos	Semiárido do Nordeste
		<i>Ipomoea sericophylla</i>	Caprinos	Sertânia (Pernambuco) e São Sebastião do Umbuzeiro (Paraíba)
		<i>Turbina cordata</i>	Caprinos	Juazeiro e Casa Nova (Bahia), Petrolina (Pernambuco) e São Raimundo Nonato (Piauí)
		<i>Sida carpinifolia</i> [ <i>Sida acuta</i> Burm. f.]	Caprinos, pôneis, <b>bovinos</b> e ovinos	Sul, Sudeste e Centro- Oeste
	Neurolipidose	<i>Solanum fastigiatum</i> var. <i>fastigiatum</i>	<b>Bovinos</b>	Sul
		<i>Solanum paniculatum</i>	<b>Bovinos</b>	Todo Brasil
	Ceroide-lipofuscinosose	<i>Halimium brasiliense</i>	Ovinos	Rio Grande (Rio Grande do Sul)

**Quadro 1.** Continuação

	Síndrome tremorgênica	<i>Ipomoea asarifolia</i>	<b>Bovinos</b> , búfalos, caprinos e ovinos	Norte e Nordeste
	Lesões localizadas	<i>Prosopis juliflora</i>	<b>Bovinos</b> e caprinos	Região semiárida do Nordeste
		<i>Phalaris angusta</i>	<b>Bovinos</b>	Sul do Brasil
	Contêm tiaminase	<i>Equisetum</i> spp.	Equinos	Minas Gerais (Triângulo Mineiro) e Bahia
		<i>Pteridium aquilinum</i>	Equinos	Sul da Bahia até o Rio Grande do Sul, Amazônia
	Outras ações neurológicas	<i>Aeschynomene indica</i>	Suíños	Rio Grande do Sul
		<i>Bambusa vulgaris</i>	Equinos	Pará
		<i>Erythroxylum decidum</i>	Ovinos	Desde o Piauí até o Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul
		<i>Erythroxylum argentinum</i>	Ovinos	Nova Palma e Pinhal Grande (Rio Grande do Sul)
		<i>Hovenia dulcis</i>	Caprinos	Sul do Brasil
		<i>Marsdenia hilariana</i>	<b>Bovinos</b>	Semiárido da Paraíba e Rio Grande do Norte
		<i>Marsdenia maegalantha</i>	<b>Bovinos</b> e ovinos	Semiárido da Paraíba, Rio Grande do Norte e Ceará
		<i>Polygala klotzschii</i>	<b>Bovino</b>	Região do Pontal (São Paulo) e Amambaí (Mato Grosso do Sul)
		<i>Ricinus communis</i> (folha e pericarpo)	<b>Bovinos</b> e ovinos	Todo o Brasil
	<i>Hypochoeris radicata</i>	Equinos	Região Sul	
	(TOKARNIA ET AL., 2012)			

## 2.2 Intoxicações por plantas que causam perturbações nervosas em ruminantes

### 2.2.1 Plantas que causam síndrome tremorgênica

*Ipomoea asarifolia* é conhecida popularmente como “salsa” ou “batatarana” (TOKARNIA et al., 2012), e sua toxicidade no Nordeste é bem conhecida (BARBOSA et al., 2005), assim como sua importância para ruminantes na Paraíba (RIET-CORREA et al., 2003). Na Amazônia foi relatada a intoxicação natural em ovinos e bovinos (TORTELLI et al., 2008). Em estudo realizado experimentalmente com bovinos, ovinos e caprinos, os sinais clínicos avaliados foram sempre de origem nervosa, porém com particularidades em cada espécie.

Em bovinos observavam-se balanço da cabeça, tremores musculares, desequilíbrio do trem posterior e queda do animal ao solo; esses sintomas em geral apareciam sem a movimentação dos animais, mas eram por ela intensificados, ou por vezes, só visíveis quando os animais eram tangidos (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1960). Búfalos são tão sensíveis quanto bovinos à intoxicação, com a única diferença que os sintomas de incoordenação foram menos acentuados experimentalmente, com a tendência dos animais permanecerem em decúbito esternal (BARBOSA et al., 2005), entretanto, a sintomatologia na

intoxicação natural é mais acentuada e consiste em andar trôpego, acentuados tremores musculares, hipermetria, queda ao solo em posições incomuns, nistagmo e marcada excitação. Deixados em sossego, após pouco tempo, os animais se levantavam, sem demonstrar quaisquer sintomas além de leve incoordenação. Quando não movimentados, observando-se com cuidado os búfalos afetados, às vezes constatavam-se tremores musculares e incoordenação leves (BARBOSA et al., 2012). Tanto em bovinos como em búfalos, ausência de lesões macroscópicas e microscópicas foram descritas (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1960; BARBOSA et al., 2005; BARBOSA et al., 2012).

Ovinos mostravam tremores musculares e perturbações na locomoção; o apetite era mantido (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1960). Em outro estudo, tremores musculares discretos dos membros e da cabeça, nistagmo, midríase, balançar da cabeça, hipersensibilidade a ruídos ou movimentos, hipermetria, ataxia, abdução dos membros ou ficavam deitados por longos períodos e quando eram movimentados a incoordenação agravava-se e os animais por vezes caíam (ARAÚJO et al., 2004). Os achados de necropsia foram negativos (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1960), entretanto no exame histológico foram observados vacúolos na camada granular do cerebelo (ARAÚJO et al., 2004; GUEDES et al., 2007), raros esferóides axonais e moderado número de células de Purkinje contendo vacúolos intracitoplasmáticos (GUEDES et al., 2007), diferente do que foi descrito por Döbereiner, Tokarnia, Canella (1960), que não observaram alterações histológicas.

Caprinos intoxicados apresentavam sonolência, lerdeza e, poucas vezes, tremores musculares e opistótono (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1960). Em outro estudo experimental com caprinos, os sinais clínicos foram caracterizados por depressão, sonolência, tremores, hipersensibilidade a ruídos ou à movimentação, movimentos laterais ou horizontais da cabeça, incoordenação durante marcha, hipermetria e permanência com os membros abertos quando em estação. Quando movimentados ou assustados os animais apresentavam severa incoordenação, andar de lado e quedas, às vezes, em posições não-usuais. Não há achados macroscópicos e microscópicos significativos (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1960; RIET-CORREA et al., 2003).

O princípio tóxico não foi determinado (TOKARNIA et al., 2012), e provavelmente esta planta induza a perturbações na neurotransmissão por interferência nos seus mecanismos bioquímicos (BARBOSA et al., 2005). *Ipomoea asarifolia* usada em experimentos continha quantidades ínfimas de swainsonina e de calisteginas, o que indica que a planta não causa

doença do armazenamento (MEDEIROS et al., 2003). O componente tremorgênico dessa planta ou seus metabólitos são eliminados no leite, o que pode sugerir um risco para humanos que consomem leite de bovinos ou caprinos que consomem *I. asarifolia* (LOPES et al., 2014).

No semiárido da Paraíba descreveram-se oito surtos de uma doença tremorgênica em bovinos, ovinos, equinos e muares. Foram observados tremores musculares, hipermetria, ataxia, aumento da base de sustentação, constante estado de alerta e, em alguns casos, decúbito. Os animais recuperavam-se em 3-4 dias a duas semanas quando retirados das pastagens, porém quando retornavam ao pasto de origem adoeciam novamente. Um ovino foi necropsiado e não foram observadas lesões macroscópicas ou microscópicas. Dois equinos foram alimentados por sete dias com gramíneas secas provenientes de fazendas onde havia acontecido surtos da doença. Um dos equinos apresentou sinais leves da doença no quinto dia de ingestão, mas recuperou-se no dia seguinte. Esses resultados sugerem que a doença está associada à ingestão de alguma gramínea, possivelmente *Chloris* spp (PESSOA et al., 2010).

### **2.2.1.1 Outras enfermidades que cursam com quadro tremorgênico**

#### **2.2.1.1.1 Micotoxicoses**

Micotoxicoses são doenças importantes em ruminantes e equinos, principalmente na América do Sul (RIET-CORREA et al., 2013). Micotoxinas tremorgênicas são um grupo de metabólitos fúngicos que afetam o SNC e mais de 30 substâncias já foram descritas (tanto de fungos exo como endofíticos), principalmente do gênero *Aspergillus*, *Penicillium*, *Claviceps* e *Neotyphodium* (*Acremonium*). Embora produzidos por espécies fúngicas não relacionadas, todos os metabólitos contêm uma porção indol modificada como característica estrutural e biologicamente ativa (SABATER-VILAR et al., 2004). Os três principais fungos que causam síndrome tremorgênica pela intoxicação por alcalóides indole-diterpenóides são *Claviceps paspali*, *Neotyphodium lolii* e *Claviceps cynodontis* que contaminam as gramíneas *Paspalum* spp., *Lolium perene* e *Cynodon dactylon*, respectivamente (RIET-CORREA et al., 2013).

Paspalitre e lolitre são micotoxinas capazes de produzir tremores (“stagers”) em animais (PHILIPPE, 2016), sendo paspalitre produzidas por diferentes espécies do gênero *Claviceps* que contaminam sementes de plantas do gênero *Paspalum* e *Cynodon* (UHLIG et al., 2009) e lolitre produzido por fungos endofíticos do gênero *Epichloë/ Neotyphodium* durante o desenvolvimento simbiótico de algumas plantas (MOORE et al., 2015).

*Claviceps paspali* é um fungo da classe dos ascomicetos e tem sido responsabilizado no Brasil por surtos de intoxicação em bovinos mantidos em pastos de *Paspalum dilatatum*

(capim-melador) e *Paspalum notatum* (grama-de-forquilha) (TOKARNIA et al., 2012). Os bovinos intoxicados apresentam principalmente tremores musculares e ataxia e macroscopicamente observou-se em alguns casos, aumento do líquido cefalo-raquidiano e hemorragias subdurais na medula. As alterações histológicas consistem em degeneração das células de Purkinje e numerosos esferoides na capa granular do cerebelo. Na reprodução experimental da doença, houve regressão da sintomatologia clínica cinco dias após os animais pararem de ingerir a planta (RIET-CORREA et al., 1983b)

“Ryegrass staggers” é causada pela presença de *Neotyphodium lolii* nas plantas da espécie *Lolium perene* (azevem), embora não descrita no Brasil. É mais frequente na Nova Zelândia e na Austrália (TOWERS, 2006). A sintomatologia clássica dessa síndrome inclui tremores generalizados (MUNDAY; MASON, 1967; ODRIOZOLA et al., 1993; MIYAZAK et al., 2001; MIYAZAK et al., 2007), entretanto os animais podem apresentar inicialmente tremores em localizações bem marcadas como cabeça (MIYAZAK et al., 2001), glúteo e membros (MIYAZAK et al., 2007). Outras alterações observadas incluem incoordenação, marcha cambaleante, hiperestesia, fraqueza de membros anteriores e diminuído ganho de peso. Casos mais graves podem apresentar rigidez dos 4 membros, espasmos tetânicos, ataxia e fraqueza sem espasticidade. Essas alterações foram observadas em bovinos, ovinos e equinos (MUNDAY; MASON, 1967; ODRIOZOLA et al., 1993; MIYAZAK et al., 2001; MIYAZAK et al., 2007). Os sintomas podem regredir em 10-12 dias se os animais forem retirados da pastagem (ODRIOZOLA et al., 1993; MIYAZAK et al., 2001). A principal substância tremorgênica identificada é a lolitrem B (TOWERS, 2006), bem como as hifas endofíticas nas sementes utilizadas na alimentação de animais que apresentaram sintomatologia específica (MIYAZAK et al., 2001); em condições experimentais, bovinos alimentados com quantidades pré-analisadas de lolitrem B apresentaram sinais clínicos após 14 dias (MIYAZAK et al., 2007). Em ovelhas e bovinos que apresentaram sintomatologia por 3 semanas, foram observadas alterações nas células de Purkinje (cromatólise, picnose) e degeneração axonal na camada granular do cerebelo. Os autores sugerem que as lesões degenerativas são possivelmente resultado de repetidos insultos de anóxia durante os episódios de convulsão e não toxicidade da micotoxina aos neurônios de Purkinje (MUNDAY; MASON, 1967). Entretanto, a ausência de alterações histológicas em animais com essa sintomatologia já foi relatada (MIYAZAK et al., 2007).

A intoxicação relatada pelo consumo de *Cynodon dactylon* (grama bermuda) já foi descrita em bovinos no Uruguai, Argentina e África do Sul (ODRIOZOLA et al., 2001;

UHLIG et al., 2009; RIVERO et al., 2011) e a toxicidade é devida à produção de micotoxinas pelo *Claviceps cynodontis*, sendo a de maior concentração a paspalitrem B (UHLIG et al., 2009). A sintomatologia é característica da “síndrome tremorgênica” e inclui espasmos e tremores musculares, incoordenação marcada, movimento incoordenado da cabeça, incapacidade de levantar, membros rígidos, fraqueza nos membros traseiros, movimentos pendulares de membros anteriores e agressividade (ODRIOZOLA et al., 2001; RIVERO et al., 2011). Muitos animais morrem acidentalmente, como por exemplo por afogamento em córregos devido a quedas e impossibilidade de se levantar (RIVERO et al., 2011). Não foram observadas alterações patológicas relevantes na necropsia e a análise de conteúdo ruminal e intestinal demonstrou *Cynodon dactylon* como o componente predominante. A reprodução experimental demonstrou sintomatologia semelhante a que ocorreu nos casos de intoxicação natural, porém de forma mais leve (ODRIOZOLA et al., 2001).

*Aspergillus clavatus* é um fungo saprófita cosmopolita, contaminante de cereais e seus produtos, mas também de outros alimentos, que quando estocados com alto teor de umidade favorecem o crescimento do fungo e a produção de toxinas (TOKARNIA et al., 2012). No Brasil, a intoxicação de bovinos por essa micotoxina foi relatada em animais que consumiram resíduos de cervejaria contaminados (LORETTI et al., 2003b; BEZERRA et al., 2009a; BRUST et al., 2015) e reproduzida experimentalmente através da administração de milho contaminado com fungo a bovinos (COLODEL et al., 2004) e subprodutos de cervejaria ou cultura fúngica a ovinos (LORETTI et al., 2003b; BEZERRA et al., 2009b). A natureza da(s) micotoxina(s) na síndrome tóxica relacionada a *A. clavatus* ainda não está bem esclarecida (TOKARNIA et al., 2012). Várias toxinas têm sido isoladas desse fungo, como a patulina (SABATER-VILAR et al., 2004), brefeldina A (WANG et al., 2002), citocalasina E e substâncias tremorgênicas como triptoquivalina e triptoquivalona (DEMAIN et al., 1976). A patulina é a substância mais frequentemente isolada dos alimentos (TOKARNIA et al., 2012) e uma das mais investigadas (MCKENZIE et al., 2004). Embora nenhuma dessas tenha sido testada em ruminantes para determinar sua participação na patogênese da doença (MCKENZIE et al., 2004), alguns autores especulam que a enfermidade possa resultar da ação sinérgica de várias destas micotoxinas (VARGA et al., 2003).

Os animais intoxicados apresentam evidente alteração locomotora com fraqueza, ataxia (muitas vezes mais marcada durante a movimentação dos animais), tremores e espasmos musculares. Inicialmente as alterações são mais evidentes nos membros posteriores. Alguns animais podem ficar na “posição cão sentado”. Uma paresia progressiva é observada e

na fase final, o animal fica em decúbito permanente, apresentando paralisia flácida. Outros sinais clínicos relatados são hiperestesia e hipersalivação (LORETTI et al., 2003b; MCKENZIE et al., 2004; SABATER-VILAR et al., 2004; BEZERRA et al., 2009a; OLIVEIRA, 2016). As lesões macroscópicas, quando presentes, foram observadas nos músculos esqueléticos dos membros pélvicos e torácicos e consistiram em áreas pálidas (focais a extensivas) (LORETTI et al., 2003b; BEZERRA et al., 2009a; OLIVEIRA, 2016) e no miocárdio (OLIVEIRA, 2016).

As alterações microscópicas são descritas principalmente em áreas do córtex, tronco encefálico (ponte, bulbo e mesencéfalo) e medula espinhal (LORETTI et al., 2003b; SABATER-VILAR et al., 2004; MCKENZIE et al., 2004; BEZERRA et al., 2009a; OLIVEIRA, 2016) e na musculatura (MCKENZIE et al., 2004; BEZERRA et al., 2009a; OLIVEIRA, 2016). As alterações descritas nos neurônios são degenerativas-necróticas; o citoplasma pode apresentar-se tumefeito, com vacuolização, pálidos ou eosinofílicos e com granulação da substância de Nissl e o núcleo pode encontrar-se picnótico, deslocado, em processo cromatolítico ou ausente (LORETTI et al., 2003a; SABATER-VILAR et al., 2004; MCKENZIE et al., 2004; BEZERRA et al., 2009a; OLIVEIRA, 2016). Em músculos com aspecto pálido na macroscopia, necrose hialina é descrita pelos autores, podendo ocorrer mineralização em lesões mais acentuadas (MCKENZIE et al., 2004; BEZERRA et al., 2009a; OLIVEIRA, 2016).

### **2.2.1.2 Patogênese das afecções tremorgênicas**

Em humanos os tremores são classificados como movimentos rítmicos, involuntários e oscilatórios de uma parte do corpo e podem ser classificados em dois grandes grupos: tremores de repouso (que ocorre em partes do corpo que não foram voluntariamente ativadas e estão totalmente suportados contra a gravidade) e tremores de ação (ocorrem durante a contração dos músculos envolvidos). Os tremores de ação ainda podem ser subdivididos em posturais, cinéticos, posição e ação específica e isométrico. Alguns tremores de ação severos podem persistir durante o repouso; para diferenciar, é necessário investigar o paciente em um movimento “dirigido a um alvo”, pois a amplitude do movimento quase sempre diminui durante esse tipo de teste quando o tremor é de repouso, enquanto em tremores de ação há aumento ou constância na amplitude do movimento. A amplitude em tremores de repouso aumenta durante stress mental/concentração ou quando movimentos de outra parte do corpo



são executados (como por exemplo caminhadas quando os tremores são nas mãos) (DEUSCHL; BAIN; BRIN, 1998; DEUSCHL; PAPENGUT; HELLRIEGEL, 2012).

Uma das doenças mais conhecidas em humanos que envolve tremores é a doença de Parkinson (DP). O tipo clássico de tremor nessa patologia é o de repouso; entretanto, alguns tremores de ação podem ser observados, principalmente posturais, cinéticos e de intenção. Geralmente os tremores são dominantes de um lado do corpo e extremidades de membros superiores e o tipo de movimento observado é o “pill-rolling” (movimento circular rítmico com o polegar e o indicador (DEUSCHL; PAPENGUT; HELLRIEGEL, 2012). Macroscopicamente é possível observar uma área pálida na região da substância negra (MELO; BARBOSA; CARAMELLI, 2007). Modificações microscópicas no sistema nervoso central incluem perda de neurônios dopaminérgicos que contêm neuromelanina da *pars compacta* da substância nigra, neurônios hipotalâmicos, pequenos neurônios corticais (principalmente no giro cingulado e córtex entorrinal) e de neurônios de outras localizações como dos núcleos aminérgicos do tronco encefálico (tanto catecolaminérgicos como serotoninérgicos), núcleo basal de Meynert (colinérgico), bem como bulbo olfatório, gânglios simpáticos e neurônios parassimpáticos no intestino (LANG; LOZANO, 1998), gliose e os neurônios sobreviventes podem conter corpos de Lewy; estes consistem em inclusões citoplasmáticas formadas principalmente por agregados protéicos. A causa da perda de neurônios não foi ainda definida, mas acredita-se que fatores genéticos, ambientais e acúmulo de proteínas estejam envolvidos (LANG; LOZANO, 1998; MELO; BARBOSA; CARAMELLI, 2007).

Os distúrbios cerebelares em humanos normalmente se manifestam também com tremores, além de comprometimento da marcha (ataxia) e interpretação errônea da distância (dismetria). Nos estágios iniciais das desordens degenerativas cerebelares, há desequilíbrio e incapacidade de ficar numa perna ou realizar o teste “calcanhar – dedo do pé”. À medida que a condição avança, a caminhada é caracterizada por “base ampla” (abdução dos membros) e há dificuldade de virar-se, o que pode resultar em quedas; há também hipermetria, escalonamento e balanços de um lado para o outro. Quando a ataxia é grave, os indivíduos já não conseguem ficar de pé ou andar sem grande ajuda e esforço. A dismetria das extremidades é evidente na disdiadococinesia (comprometimento dos movimentos rápidos e alternados), batimento disrímico de pés ou mãos e alterações em diversos testes como “teste de dedo a nariz”, “teste calcanhar-joelho” e tentativa de desenhar um círculo imaginário no ar com as pernas (SCHMAHMANN, 2004).

Substâncias tóxicas e toxinas também podem causar tremores em humanos (DEUSCHL; BAIN; BRIN, 1998), como intoxicação penitrem A que leva a um quadro de severos tremores generalizados e incoordenação (LEWIS et al., 2005).

Em doenças tremorgênicas, a utilização de modelos animais para estudos experimentais é considerada de grande valia pois promovem compreensão na patofisiologia dessas doenças em humanos. Além disso, podem ser usados para o desenvolvimento de novas drogas para o tratamento dessas pessoas (WILMS; SIEVERS; DEUSCHL, 1999).

Em ratos com uma mutação autossomal recessiva, que leva à degeneração de células de Purkinje, o principal sinal clínico é a ataxia, ficando mais severa com a maior degeneração dessas células (MULLEN, EICHER, SIDMAN, 1976). A exposição neonatal ao álcool induz a perda de células de Purkinje e células granulares e essa lesão cerebelar pode induzir deficits motores (THOMAS, GOODLETT, WEST, 1998). As células de Purkinje formam sinapses inibitórias com as células nucleares profundas e os núcleos vestibulares (DAMIANI et al., 2016) e essa célula é considerada “unidade funcional central” do córtex cerebelar, pois é alvo direto ou indireto de estímulos que chegam ou saem do cerebelo e fornece a única via para a saída de impulsos do córtex cerebelar (MULLEN, EICHER, SIDMAN, 1976; BAUER-MOFFETT; ALTMAN, 1977). Desta forma, em algumas condições em que há lesão nessas células, ocorre a manifestação de distúrbios da marcha.

Alguns autores associam os efeitos tremorgênicos a alterações bioquímicas envolvendo neurotransmissores. Em estudos experimentais utilizando ovinos e camundongos que receberam Penitrem A (micotoxina tremorgênica) foi observada maior liberação de neurotransmissores (glutamato, aspartato e GABA) ao nível cerebrocortical (NORRIS et al., 1980). Em outro experimento, ratos que receberam uma diferente micotoxina tremorgênica (verruculogen) diretamente no sistema nervoso central apresentaram níveis maiores de neurotransmissores excitatórios (glutamato e aspartato). Os tremores apresentados por esses animais foram correlacionados com estimulação da área subcortical, sendo a atuação no cerebelo também um componente importante, pois os tremores foram detectados durante locomoção forçada em animais que receberam baixas doses (PETERSON; BRADFORD; MANTLE, 1982). Outro experimento utilizando uma dose única de aflatrem em ratos demonstrou diminuição da capacidade de recaptação dos neurotransmissores GABA e glutamato em neurônios no hipocampo, que indica provável degeneração na porção terminal dos axônios, embora hipóteses como alguma interferência com a síntese ou armazenamento

desses neurotransmissores não possa ser completamente descartada (VALDES; CAMERON; COLE, 1985).

Estudo experimental utilizando ratos que não apresentavam neurônios de Golgi (alterações transgênicas específicas para essa inibição) demonstrou que inicialmente esses animais apresentaram alterações motoras severas com recuperação incompleta. Sem essas células, houve diminuição do efeito inibitório do neurotransmissor GABA, liberado pelos neurônios de Golgi. Adicionalmente os receptores do tipo NMDA encontrados nas células granulares tiveram sua eficácia comprometida. Dessa maneira, esses neurônios com função inibitória são essenciais para coordenação motora composta, além disso a integração sináptica derivada da inibição mediada por GABA e a ativação do receptor NMDA de células granulares é crítica para tais movimentos compostos (WATANABE et al., 1998).

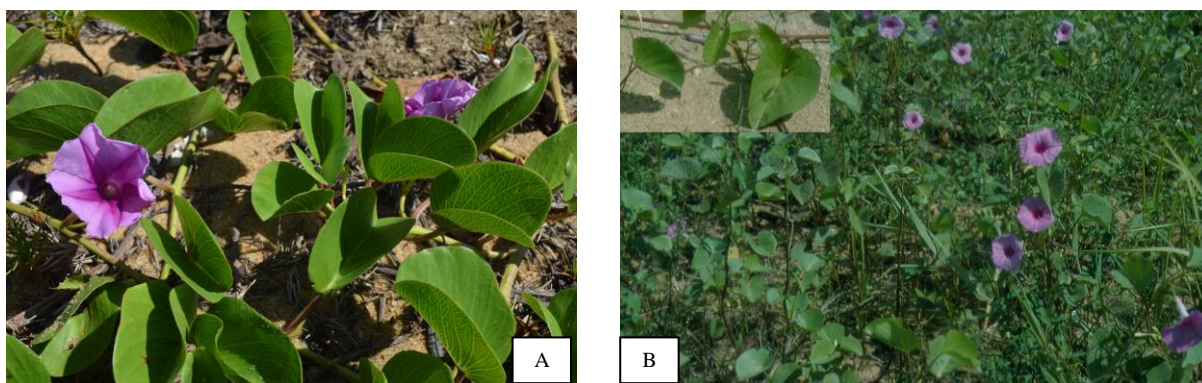
### **2.2.2 *Ipomoea pes caprae***

*Ipomoea pes caprae* é uma espécie herbácea perene que se desenvolve em todo o país, especialmente no litoral. Apresenta caule verde ou avermelhado, rastejante e com formação de raízes adventícias ao longo dos nós além de folhas alternadas, pecíolo lactífero e limbo apresentando formato variável, oblongo, oblongo com base auriculada ou ovalado, sempre com o ápice recortado em dois lobos. Normalmente as plantas apresentam flor isolada nas axilas das folhas, no entanto, pode surgir inflorescência em dicásio. Fruto do tipo cápsula e flores grandes e vistosas, de coloração rósea ou purpúrea, pedunculadas, cálice persistente no fruto e constituído por 5 sépalas desiguais, corola com tubo reto alargando-se gradualmente em direção ao ápice, evidenciando internamente coloração mais clara no fundo do tubo e coloração mais escura nas interplicas com formato triangular, as quais indicam o número de pétalas. Propagação por meio de sementes e por fragmentos do caule (MOREIRA; BRAGANÇA, 2011).

É conhecida popularmente como “salsa-da-praia”, encontrada extensivamente sobre as dunas das praias em toda região litorânea brasileira, tradicionalmente usada na medicina popular como tônica e purgativa. A decoção das raízes e folhas dessa planta também tem sido utilizada no tratamento do reumatismo, gota e gonorréia (BARNI; FILHO; COUTO, 2009). A pasta das folhas é aplicada para o tratamento de queimaduras, especialmente causadas por água-viva, pois um dos substratos exerce atividade antagonista da histamina do veneno dessa espécie animal (WASUWAT, 1970; PONGPRAYOON; BOHLIN; WASUWAT, 1991). Foi demonstrado que o extrato metanólico da planta exibe efeito

espasmolítico em preparações de músculo liso (EMENDORFER et al., 2005), ratificando resultados de estudos anteriores (PONGPRAYOON et al., 1989; PONGPRAYOON et al., 1992). Estudos demonstraram o efeito insulinogênico e hipoglicemiante do extrato alcoólico das folhas de *I. pes caprae*, que foi comprovado em análise comparativa com fármaco hipoglicêmico (cloropropamida), cujos resultados demonstraram que esse extrato específico estimulou a liberação de insulina in vitro e in vivo (KAHN et al., 1994). As propriedades analgésicas da planta foram validadas por estudos pré-clínicos em camundongos, que confirmaram que os flavonóides e terpenos são os principais princípios ativos (KROGH et al., 1999; SOUZA et al., 2000). O extrato dessa planta apresentou potencial antitumoral em um experimento com melanoma em ratos, em que houve diminuição do volume tumoral nesses animais utilizados no experimento (MANIGAUHA, KHARYA, GANESH, 2015).

Essa espécie não deve ser confundida com *I. asarifolia*, planta do mesmo gênero e com aspecto e distribuição semelhantes (Figura 1), já que até o momento não se têm informação sobre a ocorrência de intoxicações por *I. pes caprae* (TOKARNIA et al., 2012). Pode ser diferenciada em campo utilizando-se a morfologia da folha, já que *I. pes caprae* se apresenta sempre com o ápice profundamente emarginado ou em 2 lobos, e as folhas tomam a posição vertical em relação ao solo, pois apresenta anatomia adaptada para essa posição (MOREIRA; BRAGANÇA, 2011).



**Figura 1.** Observar a semelhança entre *Ipomoea pes caprae* (A) e *Ipomoea asarifolia* (B). O que diferencia essas espécies é a morfologia da folha; *I. pes caprae* apresenta a folha com ápice profundamente emarginado ou em 2 lobos e em posição vertical em relação ao solo enquanto *I. asarifolia* tem a folha com ápice pouco emarginado, ou não, e disposta paralela em relação ao solo (em detalhe na foto B). (A) Ilha da Convivencia, São Francisco do Itabapoana, RJ. (B) Manaus, foto do acervo do Professor Carlos Tokarnia.

## 2.2.3 Plantas que causam doença do armazenamento

### 2.2.3.1 Plantas que causam glicoproteínose

*Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* é conhecida como algodão bravo, canudo, manjorana, capa-bode ou mata-cabra, e é uma planta que causa doença de armazenamento citosólico lisossomal em ruminantes, principalmente em caprinos (TOKARNIA; DÖBEREINER; CANELLA, 1960; BALOGH et al., 1999; ARMIÉN et al., 2007; GUEDES et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2009), mas tem sido observada também em bovinos (TOKARNIA; DÖBEREINER; CANELLA, 1960; ANTONIASSI et al., 2007) e ovinos (TOKARNIA; DÖBEREINER; CANELLA, 1960). No Brasil, essa espécie de planta possui maior importância como planta tóxica na região Nordeste, sobretudo no vale do Rio São Francisco e no Sul do Piauí, onde permanece verde durante todo período da estiagem (TOKARNIA et al., 2012). São consideradas as plantas tóxicas mais importantes para caprinos no Nordeste e Ilha de Marajó (RIET-CORREA; BEZERRA; MEDEIROS; 2011).

Os principais sinais clínicos são de origem nervosa, observando-se incoordenação motora com ataxia e dismetria, paresia (principalmente de membros posteriores) e tremores musculares (BALOGH et al., 1999; ANTONIASSI et al., 2007; ARMIÉN et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2009; TOKARNIA et al., 2012). Macroscopicamente não são observadas lesões significativas (ANTONIASSI et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2009), embora atrofia muscular e palidez (ARMIÉN et al., 2007), edema sutil na medula espinhal, moderado hidropericárdio, congestão das meninges e atrofia assimétrica marcada do cerebelo (BALOGH et al., 1999) já tenham sido relatados.

Histologicamente ocorre tumefação e fina vacuolização de neurônios em diversas áreas do sistema nervoso central e de células epiteliais da tireoide, do rim, fígado, pâncreas e de macrófagos; adicionalmente alterações degenerativas incluindo gliose, distrofia neuroaxonal com formação de esferóides, necrose e perda de neurônios podem ser encontradas no SNC (BALOGH et al., 1999; ANTONIASSI et al., 2007; ARMIÉN et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2009; TOKARNIA et al., 2012).

*Ipomoea riedelii*, conhecida popularmente como “anicão”, foi estudada e reconhecida como causa de morte em caprinos na região do semiárido da Paraíba (BARBOSA et al., 2006; BARBOSA et al., 2007). A doença ocorre na época da chuva e provoca o armazenamento de glicoproteína nessa espécie animal (BARBOSA et al., 2006). A sintomatologia da intoxicação natural e experimental em caprinos é semelhante e inclui pêlo áspero, depressão, perda de peso e sinais nervosos como dificuldades em subir, ataxia, hipermetria, tremores de intenção,

paresia espástica principalmente nas patas traseiras, reações posturais anormais, nistagmo, inclinação da cabeça, diminuição do tônus da língua e ocasionalmente, outros sinais de comprometimento dos nervos cranianos; os sinais clínicos são mais severos quando as cabras são perturbadas ou assustadas (BARBOSA et al., 2006; BARBOSA et al., 2007). Na necropsia geralmente não são encontradas alterações significativas (BARBOSA et al., 2007), porém em alguns animais já foram descritos ascite, hidropericárdio, emaciação e atrofia serosa da gordura pericárdica (BARBOSA et al., 2006).

Microscopicamente, as lesões proeminentes são a vacuolização de neurônios em todas as regiões do sistema nervoso (porém bem proeminentes no cerebelo), esferóides axonais, vacuolização citoplasmática em células acinares do pâncreas, hepatócitos, células epiteliais do rim, células foliculares da tireoide, células de Kupffer e macrófagos de tecidos linfáticos (BARBOSA et al., 2006; BARBOSA et al., 2007).

*Ipomoea sericophylla*, popularmente conhecida como “salsa” e “jítirana” (TOKARNIA et al., 2012) foi estudada e reconhecida como causa de mortandades em caprinos no município de Sertânia, em Pernambuco (PE) (MENDONÇA et al., 2011) e no município de São Sebastião do Umbuzeiro, Paraíba (BARBOSA et al., 2006) e também leva a um quadro de doença do armazenamento (MENDONÇA et al., 2011). Na intoxicação natural os caprinos apresentam frequentemente balanço da cabeça, incoordenação com ataxia e dismetria, principalmente dos membros posteriores, além de paresia espástica, fraqueza, postura anormal, nistagmo, perda do equilíbrio e quedas ao serem assustados (BARBOSA et al., 2006; MENDONÇA et al., 2011); sintomas similares ocorrem nos casos de intoxicação experimental (BARBOSA et al., 2007). Durante as necropsias não foram encontradas alterações significativas (BARBOSA et al., 2006; MENDONÇA et al., 2011).

As alterações histológicas são semelhantes às citadas anteriormente, há vacuolização citoplasmática de neurônios, mais proeminente nos neurônios de Purkinje, esferóides axonais e vacuolização em outras células como células acinares do pâncreas, células foliculares da tireoide, hepatócitos, células dos túbulos renais (BARBOSA et al., 2006; BARBOSA et al., 2007; MENDONÇA et al., 2011).

*Ipomoea verbascoidea*, também encontrada no município de Sertânia, PE, foi definida como causa de doença do armazenamento em caprinos. Mendonça et al. (2012) descreve a intoxicação natural (ocorrida em período de chuva) e experimental em caprinos nesse município; clinicamente os animais apresentaram tremores de cabeça, incoordenação motora com ataxia e dismetria (especialmente nos membros posteriores), postura anormal,

desequilíbrio e quedas e a sintomatologia se tornava mais evidente quando os animais eram movidos ou estressados. Alguns animais apresentaram melhora completa dos sinais neurológicos, porém outros tiveram sequelas como tremores musculares e de cabeça e andar cambaleante. Não houve alterações macroscópicas significativas.

Microscopicamente neurônios com citoplasma difusamente vacuolizado foram observados em diversas áreas do SNC, principalmente neurônios de Purkinje. Esferóides axonais, vacuolização de células acinares do pâncreas, foliculares da tireoide, hepatócitos e células epiteliais dos túbulos renais também ocorreram. Achados similares foram verificados na intoxicação experimental (MENDONÇA et al., 2012).

*Turbina cordata* tem os nomes populares de “capoteira” ou “batata-de-peba” e é uma planta da caatinga do semiárido nordestino. A doença é observada na Bahia (municípios de Juazeiro, Casa Nova e Curaça), em PE (município de Petrolina) e no Piauí (município de São Raimundo Nonato) (DANTAS et al., 2007; TOKARNIA et al., 2012). A infestação da planta e a prevalência da intoxicação são mais severas em Juazeiro (DANTAS et al., 2007). A intoxicação afeta principalmente caprinos jovens, porém também é reportada com menor frequência em bovinos; ovelhas parecem não ser afetadas (DANTAS et al., 2007; TOKARNIA et al., 2012;). Tanto na intoxicação natural como na experimental a sintomatologia observada foi depressão, perda de peso, dificuldade em se levantar, ataxia, hipermetria, posição de cavalete, andar lateral, tremores de intenção, paresia espástica (principalmente nos membros posteriores). Quando os caprinos são perturbados ou assustados os tremores de intenção e a incoordenação são mais acentuados e, nesses casos, pode ocorrer perda de equilíbrio e quedas. Em animais muito intoxicados o “head raising test” (H.R.T.), teste que mantém a cabeça levantada do animal por um período e depois solta-se, por 60 segundos pode induzir os tremores e as quedas (DANTAS et al., 2007; TOKARNIA et al., 2012).

A necropsia não apresenta lesões significativas e na histopatologia há vacuolização nas células de Purkinje, de neurônios de núcleos cerebelares e de alguns neurônios do tronco encefálico. Raros esferóides axonais foram observados na camada granular do cerebelo. Vacuolização citoplasmática também foi observada em células acinares pancreáticas, células epiteliais dos rins e células epiteliais foliculares da tireoide (DANTAS et al., 2007; TOKARNIA et al., 2012).

*Sida carpinifolia* (L.f.) – nome científico aceito: *Sida acuta* (Burm. fil.) (ROSKOV et al., 2018) - é conhecida como “guanxuma”, “mata-pasto”, “vassourinha”, “relógio”, “vassoura

relógio”, “guaxima”, “malva”, “vassourinha do campo”, “malva preta” e “tupitixá” e é frequente em locais úmidos e sombreados das regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste (LORENZI, 2000), porém também foi observada em grande quantidade do Norte (TOKARNIA et al., 2012). Apesar de ser considerada uma importante erva daninha na agricultura, raramente é consumida pelos animais ao ponto de causar intoxicação (TOKARNIA et al., 2012). Pode acometer caprinos (DRIEMEIER et al., 2000; COLODEL et al., 2002a), bovinos (FURLAN et al., 2008; PEDROSO et al., 2010), ovinos (SEITZ et al., 2002; SEITZ et al., 2005) e pôneis (LORETTI et al., 2003a).

Em caprinos a sintomatologia predominantemente descrita, tanto em casos de intoxicação natural como experimental, é de hipermetria, hiperestesia, tremores musculares de cabeça e pescoço, posturas atípicas, quedas frequentes e esses sinais podem ficar exacerbados com movimentação dos animais (DRIEMEIER et al., 2000; COLODEL et al., 2002a); o H.R.T. pode provocar ataques epiletiformes, quedas súbitas, nistagmo, opistótono e tetania. Aborto foi relatado em casos de intoxicação natural (DRIEMEIER et al., 2000). Em ovinos a sintomatologia é mais branda; ocorre ataxia com dismetria, tremores musculares, balanço de cabeça, instabilidade e queda após o H.R.T. (SEITZ et al., 2002; SEITZ et al., 2005). Bovinos intoxicados apresentaram incoordenação, dificuldade de locomoção, olhar atento, tremores (na cabeça ou generalizados) e quedas frequentes (FURLAN et al., 2008; PEDROSO et al., 2010). Os pôneis intoxicados tinham andar rígido, tremores musculares generalizados, dor abdominal, quedas e decúbito (LORETTI et al., 2003a). A necropsia geralmente não apresenta alterações significativas (DRIEMEIER et al., 2000; COLODEL et al., 2002a; SEITZ et al., 2002; LORETTI et al., 2003a; SEITZ et al., 2005; FURLAN et al., 2008; PEDROSO et al., 2010), porém já se relataram linfonodos mesentéricos aumentados em caprinos (COLODEL et al., 2002a) e ovinos (SEITZ et al., 2005).

Microscopicamente a vacuolização intracitoplasmática pode ocorrer em células de Purkinje e de neurônios do tálamo, mesencéfalo, medula espinhal, epitélio dos ácinos pancreáticos e dos túbulos renais, nas células foliculares da tireóide, nos hepatócitos e em macrófagos de órgãos linfoides; esferoides axonais também podem ser observados na camada granular do cerebelo (DRIEMEIER et al., 2000; COLODEL et al., 2002a; SEITZ et al., 2002; LORETTI et al., 2003a; SEITZ et al., 2005; FURLAN et al., 2008; PEDROSO et al., 2010).

O princípio tóxico das plantas do gênero *Ipomoea* que causam glicoproteinose, *T. cordata* e *Sida carpinifolia* é o alcaloide indolizídínico swainsonina, que inibe a atividade das enzimas  $\alpha$ - manosidase lisossomal e  $\alpha$ -manosidase II do aparelho de Golgi (BALOGH et al.,



1999; COLODEL et al., 2002b; HARAGUCHI et al., 2003; BARBOSA et al., 2006; ARMIÉN et al., 2007; DANTAS et al., 2007; MENDONÇA et al., 2012). Em amostras de *I. carnea* subsp. *fistulosa*, *I. riedelii* e *I. verbascoidea* têm sido identificadas, também, calisteginas, que são alcalóides nortropânicos inibidores de glicosidases, mas não foi estabelecida, ainda, a capacidade desses alcalóides de causar sinais clínicos (BALOGH et al., 1999; HARAGUCHI et al., 2003; BARBOSA et al., 2006; MENDONÇA et al., 2012). Swainsonina e calisteginas agem, respectivamente, como inibidores das manosidases e glicosidases e desta forma levam ao acúmulo de oligossacarídeos no citoplasma das células (MOLYNEUX et al., 1995).

#### **2.2.3.1.1 Lectinohistoquímica e análise ultraestrutural em glicoproteínose**

Lectinas são proteínas e glicoproteínas de origem não imune presentes em alta concentração nas sementes de leguminosas e especula-se que tenha envolvimento em processos de germinação e armazenamento de carboidratos nessas plantas. Essas substâncias se ligam de forma não covalente à resíduos de carboidratos e, dessa forma, a técnica de lectinohistoquímica é uma ferramenta útil para detecção de carboidratos específicos em células e tecidos (BROOKS; LEATHEM; SCHUMACHER, 1997).

Em tecidos sem alteração indicam os principais sítios de glicoproteínas, glicolipídios e glicosaminoglicanos na célula e na matriz adjacente. Pode estar aumentada em células secretórias ativas e vão estar mais concentradas na superfície dessas células, em secreções e entre as células (associadas com moléculas de adesão). Em processos patológicos o aumento da concentração de lectinas, principalmente no citoplasma, pode ser observado, marcadamente em doenças do armazenamento, pelo acúmulo e falha no transporte de moléculas glicosiladas (BROOKS; LEATHEM; SCHUMACHER, 1997). O diagnóstico de doenças do armazenamento lisossomal é feito com o uso da lectinohistoquímica (MURNAME; AHERN-RINDELL; PRIEUER, 1989) e seu uso é importante também na detecção de substâncias complexas que contêm açúcar em tecidos animais relacionadas ou não com doenças do armazenamento como a lipidose (ALROY et al., 1986) e a manosidose (ARMIÉN et al., 2007). Outras utilizações também são descritas na literatura, como o uso de RCA para identificar células da micróglia (HAUKE; KORR, 1993) e avaliação da distribuição de resíduos de açúcar nas cadeias de oligossacarídeos de carboidratos complexos presentes na medula espinhal, tronco cerebral e gânglios sensoriais de ratos (STREIT et al., 1985).

As principais lectinas utilizadas em doenças do depósito lisossomal são a *Concanavalia ensiformis* (Con-A), *Glycine max* (SBA), *Dolichos biflorus* (DBA), *Ulex europaeus-1* (UEA-1), *Triticum vulgare* (WGA), Succinyl-WGA (sWGA), *Arachis hypogaea* (PNA), *Pisum sativum* (PSA), *Ricinus communis-1* (RCA-1), *Phaseolus vulgare* (PHA-E) e *Lens culinaris* (LCA) (JÚNIOR; RIET-CORREA; RIET-CORREA, 2013). Cada lectina apresenta ligação específica para um tipo de carboidrato, entretanto se trata de uma “simplificação” da interação das lectinas com as moléculas de açúcar, pois outras interações podem ocorrer além das descritas como “específicas” para cada lectina (BROOKS; LEATHEM; SCHUMACHER, 1997). A especificidade primária de cada lectina está resumida no quadro 2.

**Quadro 2** – Especificidade primária de sacarídeo para cada lectina.

Man	Glc	Gal	Fuc	galNAc	glcNAc	CH complexos
Con-A	LCA	PNA	UEA-I	DBA	WGA	PHA-E
LCA	PSA	RCA		SBA	sWGA	PHA-L
PSA		SBA		SJA		
		GSL				
		SJA				

Legenda: Man= manose/ Glc= glicose/ Gal= galactose/ Fuc= fucose/ galNAc= N-Acetilgalactosamina/ glcNAc= N-Acetilglicosamina/ CH = carboidratos (BROOKS; LEATHEM; SCHUMACHER, 1997)

As principais lectinas empregadas em caprinos intoxicados natural e experimentalmente por *I. carnea* subsp. *fistulosa* foram Con-A e WGA (ARMIÉN et al., 2007) e em casos de intoxicação por *I. sericophylla* e *I. riedelii* em caprinos observou-se marcação com as lectinas Con-A, WGA, sWGA e LCA (BARBOSA et al., 2006; MENDONÇA et al., 2011). Na intoxicação por *Sida carpinifolia* as lectinas que marcaram com maior evidência os neurônios são *Concanavalia ensiformis* (Con A), *Triticum vulgare* (WGA) e *succinyl-WGA* (sWGA) (DRIEMEIER et al., 2000; COLODEL et al., 2002a; LORETTI et al., 2003a; PEDROSO et al., 2010).

A microscopia eletrônica (M.E.) de transmissão também pode ser uma ferramenta de auxílio para o diagnóstico de doenças do armazenamento, nas quais os vacúolos observados na microscopia ótica representam lisossomos dilatados, rodeados por uma única membrana, que estão vazios ou contêm fragmentos amorfos membranosos ou material finamente granulado eletrolúcido (DRIEMEIER et al., 2000; SEITZ et al., 2005; BARBOSA et al., 2006; ARMIÉN et al., 2007; DANTAS et al., 2007; FURLAN et al., 2008; PEDROSO et al., 2010).

### 2.2.3.2 Plantas que causam neurolipidose

*Solanum fastigiatum var. fastigiatum* ocorre no sul do Brasil, é invasora de pastagens ou de terrenos abandonados e popularmente conhecida como “joá preto” ou “jurubeba” (RECH et al., 2006) e causa intoxicação em bovinos (RIET-CORREA et al., 1983; BARROS et al., 1987; PAULOVICH et al., 2002; RECH et al., 2006; SANT’ANA et al., 2011). Os sinais clínicos predominantes nos animais acometidos são hipermetria, incoordenação, quedas, tremores musculares, crises epiletiformes (ocorrem quando os animais são assustados ou excitados, porém podem ocorrer espontaneamente), permanência em estação com membros em base ampla (RIET-CORREA et al., 1983; RECH et al., 2006; SANT’ANA et al., 2011). A única alteração macroscópica relatada foi atrofia moderada do cerebelo (RECH et al., 2006; SANT’ANA et al., 2011). As principais alterações histológicas são localizadas no cerebelo e são representadas por vacuolização (parcial ou total) e degeneração das células de Purkinje, esferoides axonais na camada granular e na substância branca cerebelar e, em casos mais severos, pode ocorrer perda dessas células com proliferação da glia de Bergmann (RIET-CORREA et al., 1983; RECH et al., 2006; PAULOVICH et al., 2002; SANT’ANA et al., 2011); um estudo morfométrico realizado revelou diminuição da espessura da camada molecular e decréscimo do número de células de Purkinje (RECH et al., 2006)

*Solanum paniculatum* também é conhecida como “jurubeba” (TOKARNIA et al., 2012) e causa intoxicação em bovinos no Nordeste. Os bovinos afetados apresentam crises epiletiformes sob forma de queda, opistótono, nistagmo, tremores de intenção e hipermetria (MEDEIROS et al., 2004; GUARANÁ et al., 2011; REGO et al., 2012). Diminuição do tamanho do cerebelo foi observada em dois bovinos intoxicados naturalmente (GUARANÁ et al., 2011). Microscopicamente foram verificadas células de Purkinje com vacuolização fina e, por vezes, perda dessas células com proliferação da glia de Bergmann; degeneração walleriana e esferóides axonais na camada granular e na substância branca cerebelar também foram descritas (MEDEIROS et al., 2004; GUARANÁ et al., 2011; REGO et al., 2012). Neurônios vacuolizados e necróticos foram encontrados em óbex, pedúnculos cerebelares, colículos rostral e caudal e raramente no tálamo, núcleos da base, hipocampo e medula oblonga em casos experimentais (REGO et al., 2012) e no núcleo gracilis em casos naturais (GUARANÁ et al., 2011).

O princípio tóxico ainda não foi isolado nessas espécies de plantas (TOKARNIA et al., 2012) mas é possível que este seja inibidor enzimático ou substância que favoreça a formação

de complexos lipídicos resistentes ao metabolismo (RIET-CORREA et al., 1983; BARROS et al., 1987).

#### **2.2.3.2.1 Lectinohistoquímica e análise ultraestrutural em neurolipidose**

As células de Purkinje mostram inclusões lipídicas: corpos densos, corpos vesículo-membranosos e corpos lamelares (RIET-CORREA et al., 1983) nos casos de intoxicação por *Solanum fastigiatum var. fastigiatum*. Em casos de intoxicação natural, o material acumulado nas células de Purkinje dos animais afetados apresentou marcada afinidade pelas lectinas sWGA, Con-A e LCA (SANT'ANA et al., 2011) e em condição experimental uma alta afinidade foi observada com Con-A, sWGA e também foi evidente com WGA e RCA-I (PAULOVICH et al., 2002). Embora o armazenamento de substâncias observadas nas intoxicações por *Solanum* tenha natureza lipídica, o uso das lectinas permitiram a identificação de resíduos específicos de açúcar e isso pode indicar que há deficiência em enzimas específicas, permitindo que os metabólitos permaneçam ligados ao lipídio (PAULOVICH et al., 2002; SANT'ANA et al., 2011)

#### **2.2.4 Plantas que causam ceroide-lipofuscinose**

*Halimium brasiliense* causa intoxicação em ovinos no sul do Rio Grande do Sul; esta planta cresce misturada a pastagem. O quadro clínico é caracterizado por crises epileptiformes e durante estas, os animais caem e apresentam tremores musculares, flexão ventral do pescoço, opistótono, nistagmo, tetania e movimentos de pedalagem. Alguns animais também apresentam lesões cutâneas em orelhas e face. À necropsia não se observam lesões significativas e a principal lesão na microscopia é a vacuolização de hepatócitos, do cérebro e da medula; rara formação de esferoides axonais ocorre. Um pigmento marrom-amarelado, identificado como ceroide-lipofuscina foi observado em neurônios, astrócitos, macrófagos (inclusive células de Kupffer). A M.E. evidenciou dilatação segmentar axonal com degeneração e desaparecimento das organelas axonais e vacuolização do axoplasma no sistema nervoso central (RIET-CORREA et al., 1995; RIET-CORREA et al., 2009).

#### **2.2.5 Plantas que causam lesões localizadas no SNC**

*Prosopis juliflora* é conhecida como “algaroba” ou “algarobeira” e provoca no Nordeste a doença popularmente conhecida como “cara torta” em bovinos (TOKARNIA et al., 2012). Os animais acometidos apresentam atrofia da musculatura da face e masseter,

torção da cabeça para mastigar, mandíbula pendulosa, hipotonia e protrusão da língua, salivação excessiva, dificuldade na apreensão e mastigação dos alimentos (FIGUEIREDO et al., 1996; TABOSA et al., 2006; CÂMARA et al., 2009) e em casos experimentais, tremores na mandíbula durante a mastigação e bradicardia (TABOSA et al., 2006). Durante a necropsia de casos de intoxicação natural foram descritos atrofia dos músculos masseter (esse por vezes com coloração acinzentada) e bucinador, língua flácida, rúmex e abomaso com conteúdo ressecado, palidez em fígado e rins, congestão das meninges do SNC e áreas de hemorragia difusamente distribuídas pelo encéfalo (FIGUEIREDO et al., 1996; CÂMARA et al., 2009). Vacuolização, degeneração e perda de neurônios do núcleo motor do trigêmeo é bem marcada (TABOSA et al., 2006; CÂMARA et al., 2009), porém outros núcleos motores de nervos craniais podem ser afetados (TABOSA et al., 2006). Degeneração walleriana é observada nos nervos craniais afetados e atrofia (por desnervação) no masseter e em outros músculos envolvidos na mastigação (TABOSA et al., 2006; CÂMARA et al., 2009).

A microscopia eletrônica evidenciou mitocôndrias acentuadamente tumefeitas nos neurônios do núcleo trigeminal, com as cristas mitocondriais dispostas periféricamente, desorientadas e desintegradas (TABOSA et al., 2006). Alcalóides piperídnicos foram identificados nas vagens dessa planta, entretanto não se sabe se essa substância induz à lesão neuronal (TABOSA et al., 2000). A toxicidade parece estar relacionada com uma lesão primária, seletiva, crônica e progressiva das mitocôndrias dos neurônios acometidos dos núcleos motores dos nervos craniais, com conseqüente degeneração e perda do neurônio afetado. A degeneração de nervos craniais e atrofia muscular são conseqüência da lesão neuronal (TABOSA et al., 2006).

*Phalaris angusta* é conhecida por “aveia-louca” ou “aveia de sangue” (GAVA et al., 1999) e pode ser encontrada no oeste dos três estados da região Sul do Brasil (TOKARNIA et al., 2012) e foi responsável por dois surtos de intoxicação em bovinos no estado de Santa Catarina (GAVA et al., 1999). Os bovinos apresentam incoordenação motora com andar rígido e hipermetria, tremores generalizados, crises convulsivas e quedas (GAVA et al., 1999; SOUSA; IRIGOYEN, 1999). Macroscopicamente só são descritas lesões no SNC, com coloração de cinza-esverdeada a azulada no tálamo, mesencéfalo (GAVA et al., 1999; SOUSA; IRIGOYEN, 1999) e medula oblonga (SOUSA; IRIGOYEN, 1999). Alterações histopatológicas só foram descritas em casos experimentais; observou-se pigmento granular marrom-amarelado no citoplasma de neurônios das regiões macroscopicamente afetadas, que

correspondiam à lisossomos tumefeitos contendo estruturas laminares com orientação e densidade diferentes na microscopia eletrônica (SOUSA; IRIGOYEN, 1999).

### 2.2.6 Plantas com outras ações neurológicas

*Hovenia dulcis*, árvore comumente com 10 a 15m, é popularmente conhecida como "uva-do-japão" e "tripa-de-galinha" ocorre naturalmente na China e no Sul do Brasil ela é largamente difundida pelo cultivo (CARVALHO, 1994). Embora produza grande quantidade de frutos, os quais são palatáveis e frequentemente ingeridos pelos bovinos (CARDOSO et al., 2015) a intoxicação natural só foi relatada em caprinos (COLODEL et al., 1998). Esses animais intoxicados apresentam quadro clínico patológico nervoso (TOKARNIA et al., 2012), com sinais de ataxia, hipermetria, ranger dos dentes, pressão da cabeça contra objetos, olhar voltado para cima com movimentos laterais compulsivos com a cabeça, agressividade, prostração alternada com excitação e pressão da língua entre as arcadas dentárias (COLODEL et al., 1998). Macroscopicamente ocorre achatamento das circunvoluções cerebrais e necrose neuronal (neurônios com citoplasma mais eosinofílico, condensado e retraído, com núcleo hiper Cromático e picnótico) na substância cinzenta, com espaços perineurais e perivasculares são os principais achados histopatológicos (COLODEL et al., 1998).

A reprodução experimental foi realizada em bovinos (GAVA et al., 2004; CARDOSO et al., 2015). O quadro clínico-patológico é semelhante ao produzido por plantas hepatotóxicas (TOKARNIA et al., 2012), os animais apresentam atonia ruminal, anorexia, movimentação frequente das narinas, orelhas e cabeça (GAVA et al., 2004; CARDOSO et al., 2015) e fezes líquidas e fétidas (CARDOSO et al., 2015). Alguns bovinos apresentaram sintomas como tremores musculares, decúbito (GAVA et al., 2004; CARDOSO et al., 2015), incoordenação motora e cegueira (CARDOSO et al., 2015). Macroscopicamente os bovinos apresentam apenas alterações hepáticas (fígado vermelho-escuro, com aspecto noz moscada, leve edema de parede da vesícula biliar) e do trato gastro intestinal (mucosa rumém/retículo pálida com desprendimento fácil, abomaso com mucosa avermelhada, cólon e reto com conteúdo ressecado, grande quantidade de muco e mucosa avermelhada). Microscopicamente havia tumefação/necrose hepática, congestão, proliferação do epitélio biliar e necrose da mucosa ruminal com formação de vesículas (GAVA et al., 2004; CARDOSO et al., 2015).

Plantas do gênero *Marsdenia* são conhecidas como “mata calado” e as raízes tuberosas e os frutos são utilizados como veneno para matar principalmente cães e ratos. Há, pelo menos, duas espécies que causam intoxicação, sendo elas *Marsdenia hilariana*, uma

trepadeira e *Marsdenia megalantha*, uma planta arbustiva (TOKARNIA et al., 2012). Naturalmente e/ou experimentalmente a intoxicação por plantas desse gênero foi relatada em ovinos (SILVA et al., 2006; PESSOA et al., 2011; NETO et al., 2013), caprinos (RIET-CORREA et al., 2004; PESSOA et al., 2011; NETO et al., 2013), equinos (NETO et al., 2013), suínos (SILVA et al., 2006; NETO et al., 2013) e bovinos (RIET-CORREA et al., 2004; SILVA et al., 2006; PESSOA et al., 2011; NETO et al., 2013). Sugere-se que estas espécies de plantas contenham um glicosídeo esteroidal que é uma toxina semelhante à cynanchosida (RIET-CORREA et al., 2004; TOKARNIA et al., 2012).

Os bovinos intoxicados apresentam alterações na marcha (incoordenação, andar rígido, debilidade dos membros), flacidez (principalmente nos membros pélvicos) ou contrações tônicas (tetania), tremores e fasciculação muscular (principalmente na cabeça e nas orelhas quando os animais eram estimulados), hiperestesia, hipersalivação com movimentos de mastigação, opistótono, quedas com dificuldade de levantar, decúbito lateral/esternal, timpanismo e morte súbita (RIET-CORREA et al., 2004; SILVA et al., 2006; PESSOA et al., 2011; NETO et al., 2013).

Lesões macroscópicas e histológicas podem estar ausentes, tanto em casos naturais como experimentais de intoxicação (RIET-CORREA et al., 2004; PESSOA et al., 2011). Entretanto, alterações já foram relatadas em casos de intoxicação por *Marsdenia megalantha* (NETO et al., 2013). Na intoxicação natural, os bovinos apresentaram congestão e equimoses na superfície de corte do fígado, região cortical do rim e serosa intestinal; na experimental, edema ruminal e intestinal, vesícula biliar distendida, compactação do omaso e mucosa ruminal com áreas avermelhadas, erosões e edema foram observadas. Alterações no SNC de bovinos também foram descritas e incluíram assimetria sutil do hemisfério cerebral esquerdo com áreas focais amareladas, congestão de meninge, achatamento dos giros e herniação cerebelar (indicando edema); esses achados foram semelhantes aos encontrados nos ovinos, entretanto nessa espécie as alterações eram no hemisfério cerebral direito (NETO et al., 2013).

Microscopicamente, vacuolização citoplasmática das células epiteliais da mucosa ruminal, áreas focais de desprendimento do epitélio e moderado edema submucosa foram descritos. No SNC as lesões ocorreram no córtex do telencéfalo (necrose neuronal laminar com evidente cromatólise, picnose e vacúolos intracitoplasmáticos em neurônios, espongirose, “gitter cells”, dilatação dos espaços perivasculares e perineural) e no cerebelo (degeneração das células de Purkinje com cromatólise central e picnose). No suíno, as lesões foram mais disseminadas pelo SNC (NETO et al., 2013).

*Polygala klotzschii* tem os nomes populares de “laranjinha” e “limãozinho” e embora predominem manifestações nervosas nos animais intoxicados, perturbações digestivas podem ser observadas (TOKARNIA et al., 2012). Embora só ocasionalmente essa planta seja responsável por intoxicações, relatos já foram descritos em bovinos nos estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul (CAMARGO et al., 1968; TOKARNIA; DÖBEREINER; CANELLA, 1976). A principal condição associada à intoxicação é provavelmente a fome (TOKARNIA et al., 2012). Os principais sinais clínicos consistem em perturbações nervosas caracterizadas por forte instabilidade e rápida queda ao solo, movimentos desordenados com a cabeça (sobretudo em sentido horizontal) podendo bater fortemente contra obstáculos, fortes contrações musculares generalizadas e decúbito lateral. Além da sintomatologia neurológica os animais apresentam respiração acelerada, irregular e laboriosa, com expiração sob forma de gemidos e diarreia acentuada (TOKARNIA; DÖBEREINER; CANELLA, 1976).

Macroscopicamente a planta pode ser identificada no rúmex, a mucosa do abomaso e de todo intestino aparece variavelmente congesta e por vezes com petéquias. Em alguns casos as placas de Peyer e os linfonodos mesentéricos ficam congestos. Microscopicamente há necrose com figuras de picnose e cariorrexia em todo tecido linfoide, principalmente nos folículos linfóides do baço e dos linfonodos externos e viscerais, das placas de Peyer e do tecido linfoide peribronquial. Necrose das células epiteliais da mucosa do intestino delgado, sobretudo do jejuno e íleo também foi relatada (TOKARNIA; DÖBEREINER; CANELLA., 1976). O princípio tóxico isolado da planta foi a 5-metoxi-podofilotoxina (BUSAM, 1985), entretanto, os sintomas parecem ser uma combinação dos efeitos tóxicos de diversas substâncias encontradas nessa planta. A reabsorção do princípio tóxico é elevada pelas saponinas e os glicosídeos são tóxicos também em testes *in vitro* contra fibroblastos e linfócitos (KREBS; SOLLINGER, 1996).

*Ricinus communis* é uma planta arbustiva conhecida como “mamona” ou “carrapateira” e a ingestão das folhas e pericarpo provoca sintomatologia neurológica, enquanto a ingestão de sementes tem efeito irritativo sobre a mucosa do trato digestório. A condição que leva os bovinos a ingerirem as folhas é provavelmente a fome (TOKARNIA et al., 2012). Os principais sinais clínicos em bovinos são andar desequilibrado, tremores musculares, deitam-se com dificuldade após curta marcha e mostram, sialorréia, movimentos de mastigação e, às vezes, eructação excessiva (TOKARNIA, DÖBEREINER, CANELLA, 1975; DÖBEREINER, TOKARNIA, CANELLA, 1981; TOKARNIA et al., 2012). Em estudo experimental com ovinos o quadro clínico foi semelhante (BEZERRA; BRITO, 1995). Em



altas doses há convulsões clônicas e estimulação do sistema nervoso central em ratos (FERRAZ et al., 1999; FERRAZ et al., 2000).

As folhas contêm ricinina, um alcalóide neurotóxico que, em estudos *in vitro*, inibem a cadeia respiratória (FARAH et al., 1988). Essa substância também é encontrada no pericarpo da fruta (FERRAZ et al., 1999). O mecanismo de ação envolve neurotransmissores e um sítio específico do receptor GABA<sub>A</sub>. Em experimentos realizados em cobaias foi observado aumento da liberação de glutamato no córtex cerebral que não foi acompanhada por significativa liberação de GABA e isso poderia estar implicado na gênese da convulsão induzida por ricinina, que pode ser agravada pelo bloqueio pos sináptico parcial de receptores GABA<sub>A</sub> por essa substância (FERRAZ et al., 2000; FERRAZ et al., 2002). Outros componentes têm propriedades semelhantes a neurolépticos e podem estar associadas com a sintomatologia (FERRAZ et al., 1999).

### **2.2.7 Plantas que contem tiaminase**

*Equisetum* é popularmente conhecida como “cavalinha” e no Brasil só há históricos da intoxicação em equinos (RIET-CORREA; SOARES; MENDES, 1998; TOKARNIA et al., 2012) e só ocorreram surtos em Minas Gerais (Triângulo Mineiro), Bahia e São Paulo (RIET-CORREA; SOARES; MENDES, 1998; TOKARNIA et al., 2012). Os equinos acometidos apresentam emagrecimento e perturbações de origem nervosa como perda do controle muscular, andar cambaleante, tremores e quedas (ALVIM, 1998; TOKARNIA et al., 2012).

*Pteridium aquilinum* é conhecida como “samambaia” (TOKARNIA et al., 2012) e, no Brasil, sob condições naturais só relata-se intoxicação por asininos no litoral do Paraná (DINIZ; BASILE, 1984). Clinicamente os asininos apresentaram anorexia, incoordenação dos membros posteriores, andar cambaleante, membros afastados e quando tratados com tiamina alguns se recuperam (DINIZ; BASILE, 1984). A reprodução experimental foi realizada em equinos e apresentaram incoordenação progressiva, sudorese intensa, mioclonias, movimentos de pedalagem e episódios convulsivos (FERNANDES et. al., 1990).

Em ambas intoxicações não foram descritas alterações macroscópicas nem histológicas relevantes. O tratamento preconizado é a administração de tiamina, porém quando o animal está em fase final, pode não surtir efeito (DINIZ; BASILE, 1984; ALVIM, 1998).

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Locais de execução do trabalho

O estudo foi conduzido através de uma parceria entre a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e as seguintes instituições: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e Universidade de Medicina Veterinária de Minnesota (UMN).

O acompanhamento clínico e necropsias dos animais intoxicados espontaneamente por *Ipomoea pes caprae* ocorreram no setor de Clínica Médica de Grandes Animais do Hospital Veterinário da UENF e na propriedade de ocorrência do surto. A reprodução experimental da intoxicação e acompanhamento clínico desse animal ocorreu no setor de Clínica Médica de Grandes Animais do Hospital Veterinário da UENF. As análises bioquímicas foram realizadas pelo Laboratório de Clínica e Cirurgia Animal da mesma instituição.

O exame histopatológico e a avaliação lectinohistoquímica foram feitos no Setor de Anatomia Patológica, localizado no Anexo I do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica.

Exames complementares histoquímicos e imunohistoquímicos, além da avaliação ultramicroscópica, foram realizados no Laboratório de Diagnóstico da Universidade de Medicina Veterinária de Minnesota (UMN), Estados Unidos da América (EUA).

Exame imunohistoquímico para Encefalopatia Espongiforme Bovina (BSE) foi realizado no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

### 3.2 Visitas à propriedade de ocorrência do surto

Foram realizadas seis visitas (4 visitas em 2013 e 2 visitas em 2014) à propriedade na qual foram observados animais com sintomas neurológicos sugestivos de síndrome tremorgênica.

Essa propriedade está situada em uma das ilhas do delta (Ilha da Convivência, situada no Município de São Francisco do Itabapoana, RJ) no encontro do rio Paraíba do Sul com o mar, latitude 21° 36' 0" Sul e longitude 41° 1' 60" Oeste, mesorregião norte fluminense.

### 3.3 Identificação botânica da planta

Amostras de plantas colhidas na propriedade da Ilha da Convivência – local da ocorrência do surto – foram posicionadas entre folhas de papel, de forma que pudessem ser

analisadas todas as partes da planta e prensadas por 24h, com subsequente troca dos papéis e repetição do processo por 14 dias. As exsicatas obtidas foram enviadas ao Departamento de Botânica do Instituto de Biologia da UENF para identificação taxonômica, sendo identificadas como *Ipomoea pes caprae*.

### **3.4 Animais**

#### **3.4.1 Intoxicação espontânea**

Durante as visitas realizou-se observação dos 12 bovinos criados na propriedade. Como os animais eram criados soltos a pasto, a avaliação foi realizada pela análise do comportamento dos mesmos a campo, principalmente o padrão da marcha e a presença de tremores.

O exame neurológico completo (seguindo modelo do anexo B) só foi realizado em três bovinos com sinais neurológicos mais evidentes. Esses três animais afetados naturalmente foram uma novilha (**bovino 1**), um touro (**bovino 2**), e um garrote (**bovino 3**), mestiços Nelore. Eles foram examinados e acompanhados periodicamente, de forma mais criteriosa, desde a primeira visita à propriedade até o óbito.

Dois destes animais (bovino 1 e 3) foram eutanasiados mediante sedação com cloridrato de xilazina a 2% por via intramuscular na dose de 0,2 mg/Kg, seguida da aplicação de 50 ml de cloridrato de lidocaína a 2% no espaço atlantoccipital e necropsiados imediatamente após a morte. O touro (bovino 2) morreu afogado após queda (decorrente da síndrome tremorgênica) próximo de um córrego. A necropsia desse animal também foi realizada imediatamente após a morte.

##### **3.4.1.1 Acompanhamento clínico**

Três animais (bovinos 1, 2 e 3) foram submetidos ao exame clínico segundo as recomendações de Rosemberger (DIRKSEN; GRÜNDER; STÖBER, 1993). Além dos parâmetros gerais, o exame neurológico específico para enfermidades do sistema nervoso foi realizado, com o objetivo de correlacionar a sintomatologia à localização das lesões e delinear parâmetros para o diagnóstico clínico da enfermidade. Essa avaliação foi realizada de acordo com ficha em anexo B.

##### **3.4.1.2 Necropsia e histopatologia**

A necropsia foi realizada imediatamente após o óbito e fragmentos de fígado, vesícula biliar, rins, baço, tecido subcutâneo e pele, linfonodos além de glândulas salivares, pâncreas,

adrenal, bexiga, intestinos delgado e grosso, rúmen, retículo, omaso, abomaso, pulmões, coração, testículo ou ovário, encéfalo, medula, junção costochondral, tireóide, hipófise, globo ocular e músculos foram coletados. Os fragmentos colhidos foram fixados em formalina (tamponada) 10%, exceto o SNC, que foi fixado em formalina (tamponada) 20%. O formol foi trocado oito horas após a primeira fixação e novamente depois de 24 horas. As amostras foram fixadas imediatamente, com exceção dos fragmentos de músculos, que foram fixados três horas após o óbito do animal.

Após a fixação em formalina tamponada, os fragmentos foram desidratados em quatro banhos utilizando álcool etílico P.A.(dois minutos em cada), diafanizados em dois banhos de xilol (quinze minutos em cada), incluídos em parafina (aproximadamente 60°C) e cortados em micrótomo à espessura de 5 micrômetros. Os cortes foram corados pela Hematoxilina e Eosina e as lâminas examinadas em microscópio óptico (Nikon Eclipse E200). As fotomicrografias foram obtidas por um microscópio Zeiss Axioscope a1 com câmera AxioCam ic5 de 5 megapixels

#### **3.4.1.3 Histoquímica e imunohistoquímica**

A imunohistoquímica foi realizada para sinaptofisina e calbindina. Cortes histológicos de 4mm foram desparafinados e reidratados em banhos de álcool (concentração decrescente). A recuperação antigênica foi realizada através do método de “revelação de epítipo induzido por calor (HIER)” utilizando equipamento que combina calor e pressão (Biocare Decloaking Chamber - Biocare Medical®, Concord, CA) e solução específica de recuperação (Target Retrieval Solution - Dako®; cat. #: S1699) com pH 6,0 ou 9,0. Peroxidase endógena foi bloqueada com solução de peróxido de hidrogênio a 3% por 15 minutos. Sítios de ligação não específica foram bloqueados com soro de cabra na concentração de 1:10 em solução tampão (TRIS) por 15 minutos. Após esses procedimentos, o material foi incubado com os anticorpos específicos: anti-calbindina (Swant® CB300, monoclonal – clone 300), na diluição 1:1000 e método overnight a 4°C e anti-sinaptofisina (Dako® M0776, monoclonal- clone SY38) na diluição 1:50 (1,28 ug/ml) por 45 minutos, em temperatura ambiente. Após esse procedimento, as lâminas foram incubadas com polímero conjugado com anticorpos secundários (EnVision+/HRP Goat anti-Mouse IgG- Dako®; cat. #: K4001) por 45 min. A imunoreatividade foi detectada pelo cromógeno AEC (3-amino-9-etilcarbazol) (Dako®; cat. #K3469) por 5-15 minutos. As lâminas foram contracoradas com hematoxilina de Mayer por 5 minutos.

Para a impregnação pela prata Bielschowsky os cortes foram desparafinados e hidratados até a água destilada e depois colocados em solução de nitrato de prata a 20%, pré-aquecida a 37°C por 15 minutos. Depois lavados com água destilada e solução de prata amoniacal (nitrato de prata com hidróxido de amônio) foi colocada sobre os cortes por 15 minutos, a 37°C, na estufa. Após essa etapa os cortes foram colocados na solução de hidróxido de amônio a 1%, por 1-3 minutos. Depois foram colocados na solução de prata amoniacal com solução de revelação (formalina a 10%, não tamponada, água destilada, ácido nítrico concentrado e ácido cítrico) de 3 a 5 minutos. Os cortes foram mergulhados na solução de hidróxido de amônio a 1% para interromper a reação com a prata e retornaram à solução de revelação com prata amoniacal, por 3 minutos. Os cortes foram lavados em solução de hidróxido de amônio a 1%, por 3 minutos. Acrescentou-se a solução de tiosulfato de sódio a 5% (solução redutora) por 5 minutos. Depois os cortes foram lavados em água destilada, desidratadas e clarificadas com álcool e xilol respectivamente e montadas em meio resinoso.

Para a realização de imunohistoquímica para encefalopatia espongiforme bovina (BSE) os cortes histológicos foram desparafinados e tratados em solução 10% de peróxido de hidrogênio (Merck, Darmstadt, Germany) em metanol por 20 minutos, lavados em água destilada e tratados com ácido fórmico (Merck, Darmstadt, Germany) por cinco minutos. Posteriormente, realizou-se: a lavagem com água destilada e TBS (Tris base, Tris-HCl, NaCl; DAKO®, Carpinteria, USA), por dois minutos; lavagem rápida com 0,1% de Tween (Sigma Chemical Co., Saint Louis, USA) diluído em TBS, por um minuto; lavagem em água destilada, por um minuto; tratamento com proteinase K (DAKO Cytomation, Carpinteria, USA), por 40s e lavagem em água destilada gelada. Para a diminuição das ligações inespecíficas, utilizou-se leite desnatado (Molico®, Nestlé, Brasil) na diluição de 5%, por 20 minutos, e lavados em TBS, por dois minutos. Os dois anticorpos monoclonais anti-príon mAb P4 e F99/97.6.1 (VMRD Pullman, EUA) foram diluídos em 1:500 em solução tampão (PBS) cada um e misturados e os cortes histológicos incubados a 4°C com os anticorpos em câmara úmida por 18 horas. Posteriormente, aplicou-se o anticorpo secundário biotilado por 20 minutos e o conjugado estreptavidina-peroxidase (DAKO LSAB 2 kit®, DAKO Corp., Carpinteria, EUA) por 20 minutos. A reação da IHQ foi revelada com cromógeno 3,3-diaminobenzidina (DAB, DAKO Corp., Carpinteria, EUA) ou cromógeno AEC (3-amino-9-etilcarbazol) durante um minuto, e as lâminas contracoradas com hematoxilina por 30 segundos.

#### 3.4.1.4 Avaliação lectinohistoquímica

Seções histológicas do sistema nervoso central foram desparafinadas, hidratadas, e incubadas em peróxido de hidrogênio a 3% em duas etapas de 15 minutos (diluição do peróxido no momento do procedimento) para bloqueio de peroxidases endógenas. Após a lavagem das lâminas por dois minutos com tampão fosfato (PBS), estas ficaram submersas em tampão citrato (pH 6,0) para recuperação antigênica, por 15 minutos em banho-maria à 98°C. Após esse procedimento, deixar 15 minutos resfriando em temperatura ambiente e lavar com água destilada. O bloqueio de reações inespecíficas foi realizado com leite desnatado a 5 % (Molico® - Indústria Brasileira). Os cortes foram incubados “overnight” com lectinas (Vector Laboratories, Burlingame, Califórnia, 94010, USA) na diluição de 5µg/mL (exceto as lectinas **Con-A** com diluição de 0,5 µg/mL e **RCA** µg/mL com diluição de 1,0) em PBS. Utilizamos as lectinas *Canavalia ensiformis* agglutinin (**Con A**; a-d-Man; a-d-Glc-specific), *Dolichos biflorus* agglutinin (**DBA**; a-d-Gal-Nac-specific), *Glycine Max* agglutinin (**SBA**; a-d-GalNac; b-Gal-specific), *Arachis hypogaea* agglutinin (**PNA**; b-d-Gal/(1-3)GalNac-specific), *Ricinus communis* agglutinin-I (**RCA – I**; b-d-Gal-specific), *Ulex europaeus* agglutinin-I (**UEA-1**; a-L-Fuc-specific), *Triticum vulgare* agglutinin (**WGA**; a-d-GlcNac/NeuNac-specific), *Succinyl-WGA* (**sWGA**), *Griffonia (Bandeiraea) simplicifolia* (**GSL**), *Sophora japonica* (**SJA**), *Pisum sativum* (**PSA**), *Phaseolus vulgaris* (**PHA-L e PHA-E**), *Lens culinaris* ou *L. esculenta* (**LCA**) (Lectin Kit Biotinylated BK 1000 e 2000, Vector Laboratories Inc., Burlingame, CA, USA), posteriormente incubadas com o complexo streptavidina-peroxidase (apenas gota vermelha - Vector Laboratories Inc.) por 20 minutos. Todas as seções foram contra-coradas com hematoxilina de Harris e avaliadas em microscópio óptico (Nikon Eclipse E200). Para comparação dos padrões de marcação foram utilizados cortes do encéfalo de ovino intoxicado por *Sida carpinifolia*, planta que causa doença do armazenamento (material de SANTOS, 2018); de um bovino intoxicado por *Ipomoea asarifolia*, planta que causa síndrome tremorgênica (material de TORTELLI et al., 2008) e de um bovino saudável. As fotomicrografias foram obtidas por um microscópio Zeiss Axioscope a1 com câmera AxioCam ic5 de 5 megapixels.

#### 3.4.1.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão

Após a fixação em formol tamponado a 20%, fragmentos de 1mm<sup>3</sup> de sistema nervoso central foram refixados em glutaraldeído tamponado a 3%, em solução de cacodilato de sódio a 0.166 M (ElectronMicroscopySciences, Hatfield, Pennsylvania), seguido de uma segunda

refixação em tetróxido de ósmio a 1%. Os tecidos foram desidratados em uma bateria de álcool e incluídos em resina (ElectronMicroscopySciences). As amostras foram emblocadas e cortadas em um ultramicrotomo Leica UC6 (Leica Microsystems). Os cortes (60-90 nm) foram coletados em grades de cobre de 100-mesh (ElectronMicroscopySciences), contrastados com acetato de uranila a 5% por 20 minutos e lavados por solução de citrato de Sato's por 6 minutos.

As secções foram examinadas em um microscópio eletrônico de transmissão (JEOL Ltd.,Tokyo, Japan). As dimensões das estruturas celulares foram analisadas através do software iTEM (Olympus SIS, Munster, Germany), no Laboratório de Diagnóstico da Universidade de Medicina Veterinária de Minnesota, USA, pelo professor Aníbal Armién.

### **3.4.2 Reprodução experimental**

O experimento, submetido e aprovado pela comissão de ética e experimentação animal (CEUA protocolo 222), foi conduzido no Setor de Clínica Médica de Grandes Animais da UENF.

No estudo experimental utilizou-se um bezerro macho, mestiço Girolando com 110 kg de peso vivo, sem alterações ao exame clínico, desverminado e tratado contra ectoparasitas 15 dias antes do início do experimento (ivermectina na dose de 0,2mg/kg). A princípio, sua alimentação era composta de volumoso à vontade, *Pennisetum purpureum* (Capim Elefante), picado, *ad libitum* e 1 kg de concentrado dividido em duas porções ao dia.

Iniciou-se o fornecimento de *I. pes caprae* na quantidade de 20 a 30 g por kg/PV dia, com a finalidade de avaliar a toxicidade e seus efeitos. A planta era coletada no local do surto de intoxicação a cada quatro dias e conservada, sob refrigeração entre 2 e 8°C. Adicionalmente foi mantida a suplementação com concentrado para que o animal não desenvolvesse subnutrição.

#### **3.4.2.1. Acompanhamento clínico**

O animal foi observado de seis em seis horas e o exame físico geral e neurológico, segundo as recomendações de Rosemberger (DIRKSEN; GRÜNDER; STÖBER, 1993), realizado de 12 em 12 horas. Após o início da sintomatologia nervosa (síndrome tremorgênica) a administração de *I. pes caprae* foi suspensa com objetivo de se constatar a possibilidade de eventual recuperação do animal. O exame neurológico completo (segundo modelo do anexo B) também foi realizado.

Amostras de sangue foram coletadas pela punção da veia jugular, sendo utilizados tubos vacuolizados com anti-coagulante (EDTA, para análises hematológicas) e sem anti-coagulante (para análises bioquímicas). Realizou-se, no laboratório de patologia clínica da UENF, hemograma (12º e 20º dias pós início dos sintomas), plaquetometria, perfil bioquímico (avaliação de glicose, ureia, creatinina, GGT, ALT, AST) e exame coproparasitológico.



## 4 RESULTADOS

### 4.1 Animais intoxicados naturalmente

#### 4.1.1 Histórico e Anamnese

Em janeiro de 2013, um bezerro girolando de aproximadamente nove meses de idade, foi trazido ao Hospital Veterinário da UENF com sinais clínicos neurológicos, caracterizados por síndrome tremorgênica, em um grau acentuado. Durante a anamnese o proprietário relatou que outros bovinos morriam esporadicamente naquele local com os mesmos sintomas há pelo menos 20 anos. O proprietário optou por levá-lo de volta à propriedade para tentar recuperá-lo, porém o animal morreu. Relatou-se ainda, que havia aproximadamente 12 bovinos, três equinos e um carneiro na ilha, mas apenas bovinos teriam apresentado sintomatologia, embora o mesmo relate que os outros animais também consumiam a planta; no mês de agosto há maior escassez de alimento e sem opção, os animais começam a ingerir a planta. Períodos de maré muito alta contribuem para diminuição de forrageiras e restringem a área de pastejo, na qual praticamente só há a planta. O proprietário relatou que as mortes de animais foram mais frequentes nos últimos três anos.

Durante a primeira visita, no dia 10 de janeiro de 2013, o proprietário informou que uma **novilha (bovino 1)** de aproximadamente dois anos e meio de idade, havia abortado após apresentar sintomas de síndrome tremorgênica. Ao perceber que a suspensão da ingestão da planta causava a remissão dos sintomas, o proprietário tratava alguns animais acometidos amarrando-os e fornecendo capim picado, mas devido à escassez de forragem na ilha, os animais terminavam por ser soltos e o quadro clínico recidivava. Realizou-se inspeção das pastagens utilizadas pelos animais e verificou-se predominância de *I. pes caprae* (Figuras 2-5) e pastejo da planta por parte dos bovinos em grande parte da ilha. Havia escassez de forragem no solo e sinais de invasão da ilha pelo mar. Foi então estabelecida a suspeita de intoxicação por *I. pes caprae*.

Nas 3 visitas seguintes (05 de junho, 03 de julho e 17 de setembro de 2013), observou-se que esta mesma fêmea apresentou sinais mais acentuados e um **touro (bovino 2)** de três anos de idade evidenciou sintomas discretos, porém não apresentou a crise tremorgênica quando estimulado. Este último morreu afogado.

Nas duas visitas realizadas em 2014 (27 de novembro e 11 de dezembro), outros animais apresentaram síndrome tremorgênica, em variados graus de intensidade. Um **garrote (bovino 3), mestiço, macho**, foi identificado com alterações neurológicas na fase inicial, e o

proprietário afirma que o animal ficou 15 dias na Ilha apenas com acesso a planta como fonte de alimento, ficou três dias sem se alimentar e só no 4º dia começou a ingerir a *Ipomoea pes caprae*. No total, pelo menos 7 dos 12 animais da propriedade apresentaram sinais clínicos compatíveis com síndrome tremorgênica. O proprietário relatou que como se tornou inviável a criação de animais naquele local, por vezes ele retirava o animal do pasto e após posterior recuperação o mesmo vendia esse animal.

Só foi possível realizar a necropsia de três animais: da novilha de aproximadamente dois anos e meio de idade (**bovino 1**), do touro com três anos de idade (**bovino 2**) e do garrote macho (**bovino 3**). Na necropsia não havia alterações relevantes. Além dessas 3 mortes, o proprietário relatou que ocorreu mais um óbito, totalizando então 4 animais.

#### 4.1.2 Sinais clínicos

O **bezerro** trazido ao hospital em janeiro apresentava tremores, incapacidade em se manter em estação, marcada diminuição do tônus muscular, sede acentuada e inapetência. A resposta a estímulos foi verificada, embora a capacidade de reagir estivesse bastante diminuída.

Durante a primeira visita à ilha, o **bovino 1** apresentou sinais clínicos caracterizados por tremores da cabeça, andar incoordenado, decúbito e paralisia que se exacerbavam quando a aproximação e movimentos de ameaça eram realizados (Figuras 6 e 7).

Nas 3 visitas seguintes, o **bovino 1** apresentou sinais acentuados da síndrome e o **bovino 2** evidenciou tremores discretos na região da cabeça, porém não apresentou a crise tremorgênica quando estimulado. Em uma das crises desse animal, o mesmo não conseguiu se levantar e acabou morrendo afogado (Figuras 8 e 9).

Nas duas visitas em 2014, o **bovino 3** foi identificado com alterações neurológicas em fase bastante inicial, e o proprietário afirma que o animal ficou 15 dias na Ilha apenas com acesso à planta como fonte de alimento, ficou três dias sem se alimentar e só no 4º dia começou a ingerir a *Ipomoea pes caprae* (Figuras 10 e 11). Outros animais apresentaram sinais tremorgênicos, alguns com episódios de duração média de 20 minutos e posterior recuperação parcial, caso não houvesse novo estímulo. Nesta fase os principais achados foram intensa ataxia locomotora com balançar da cabeça, base ampla (abdução principalmente dos membros posteriores), tremores nos membros torácicos e pélvicos constantemente exacerbados com o estresse. Após a aproximação e intensificação do estresse verificavam-se quedas, incapacidade em se levantar, membros flexionados. Na tentativa de se levantar, após

decúbito esternal, o animal o fazia apenas com os membros anteriores. Não foram verificadas variações significativas de temperatura, frequência cardíaca e respiratória. Embora seja difícil uma avaliação mais precisa, a evolução da doença era crônica.



**Figura 2.** Área invadida por *Ipomoea pes caprae*, Ilha da Convivência, São Francisco do Itabapoana, RJ. Notar característica rasteira da planta.



**Figura 3.** Flor da *Ipomoea pes caprae*, Ilha da Convivência, Município de São Francisco do Itabapoana, RJ.



**Figura 4.** Folha da *Ipomoea pes caprae*, Ilha da Convivência, São Francisco do Itabapoana, RJ. Notar caule (seta) verde, pecíolo (cabeça de seta) avermelhado e folhas alternadas e simples, com limbo (estrela) apresentando formato variável, oblongo, oblongo com base auriculada ou ovalado, sempre com o ápice recortado em dois lobos.



**Figura 5.** Caule da *Ipomoea pes caprae*, Ilha da Convivência, São Francisco do Itabapoana, RJ. Notar a lactescência da planta.



**Figura 6.** Bovino 1. Intoxicação natural por *Ipomoea pes caprae*. Animal com marcada incoordenação motora.



**Figura 7.** Bovino 1. Intoxicação natural por *Ipomoea pes caprae*. Animal em decúbito lateral após queda ocasionada por tremores.



**Figura 8.** Bovino 2. Intoxicação natural por *Ipomoea pes caprae*. Animal em decúbito esternal com dificuldade de se levantar após queda.



**Figura 9.** Bovino 2. Intoxicação natural por *Ipomoea pes caprae*. Na tentativa de se levantar, o animal o fazia apenas com membros anteriores.



**Figura 10.** Bovino 3. Intoxicação natural por *Ipomoea pes caprae*. Animal com desequilíbrio, mantendo abdução de membros posteriores.



**Figura 11.** Bovino 3. Intoxicação natural por *Ipomoea pes caprae*. Animal (pelagem castanha) com marcha incoordenada.



#### **4.1.3 Achados macroscópicos**

Durante a avaliação necroscópica de três animais intoxicados naturalmente observou-se significativa quantidade de folhas e pecíolos de *I. pes caprae* no conteúdo ruminal. Nos demais órgãos não foram observadas alterações significativas.

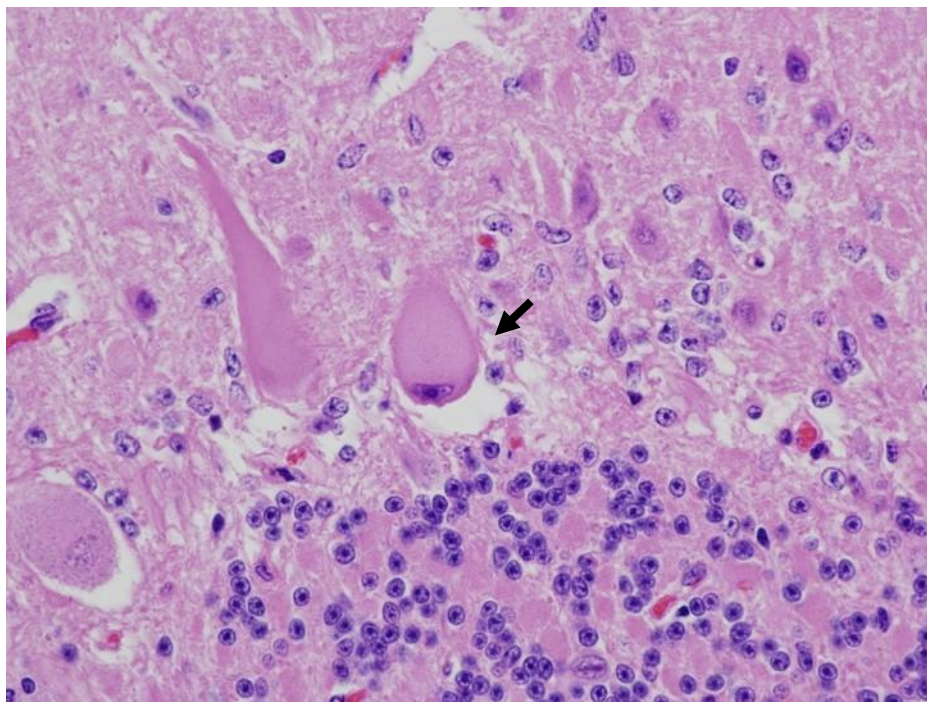
#### **4.1.4 Achados microscópicos**

O estudo histopatológico do SNC evidenciou, na substância cinzenta do córtex, alterações neuronais regressivas, sob forma de tumefação, vacuolização e cromatólise com evolução para lise acompanhadas de proliferação astrocitária (astroglíose), edema astrocitário e satelitose. Alterações semelhantes foram observadas em diversas áreas da base do cérebro e no “H” medular. Na substância branca, independente do local, havia edema de astrócitos e da neuropila. No cerebelo observaram-se cromatólise de células de Purkinje com torpedos axonais na camada molecular (Figuras 12-14), alterações degenerativo-necróticas nos neurônios de Golgi (Figuras 15 e 16), além de edema astrocitário e astroglíose na substância branca (Figuras 17 e 18). As descrições microscópicas de cada animal estão no quadro 3.

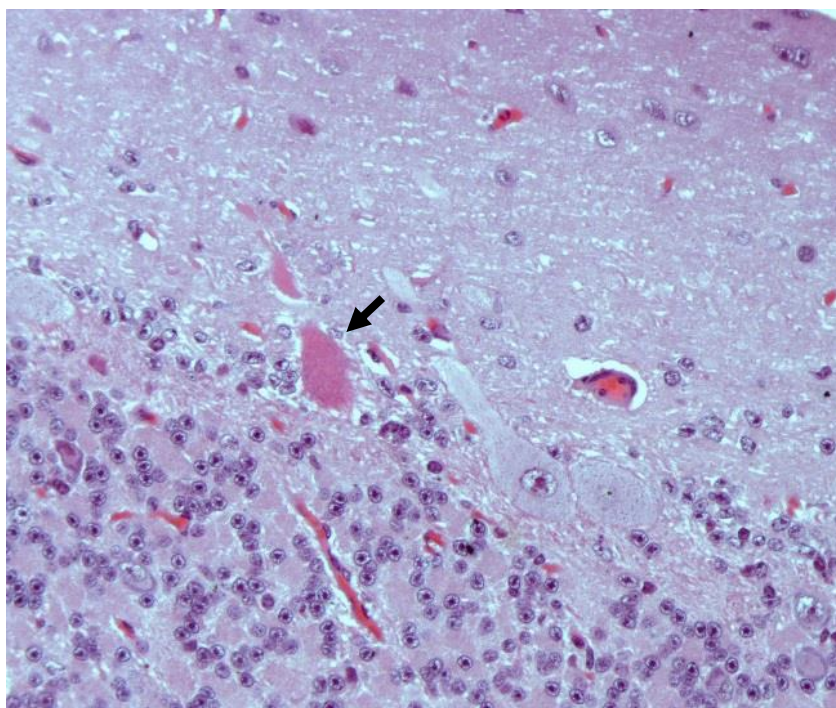
Não foram observadas alterações relevantes nos demais órgãos avaliados.

**Quadro 3.** Alterações histológicas do Sistema Nervoso Central dos bovinos intoxicados

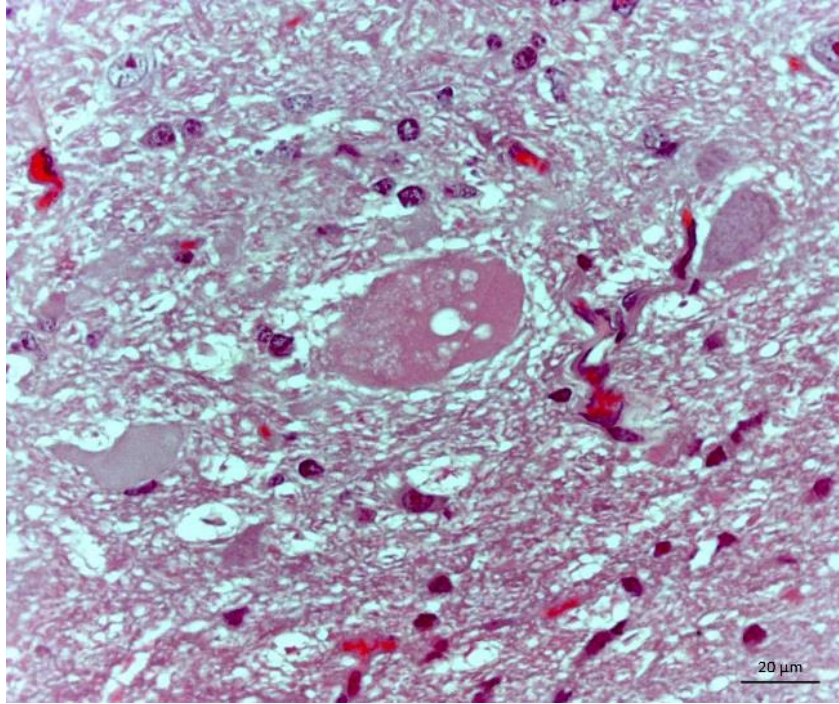
Estrutura do SNC afetada	Alterações histológicas	Localização
<b>Bovino 1</b>		
Neurônios – corpo celular	Núcleos superiores (bilateral) com neurônios necróticos	Tronco encefálico - Bulbo
	Raros neurônios necróticos	Tronco encefálico - Entre Bulbo e mesencéfalo
	Necrose e cromatólise de alguns neurônios Raros neurônios de Purkinje necróticos	Cerebelo
Neurônios - prolongamentos	Raras câmaras de digestão	Tronco encefálico - Entre Bulbo e mesencéfalo
	Alguns esferóides axonais	Cerebelo
Astrócitos	Astroglíose, com astrócitos aumentados de volume (tumefeitos) e com alterações morfológicas.	Telencéfalo Diencefalo – base do cérebro Tronco encefálico –mesencéfalo
	Na substância branca os astrócitos apresentaram-se vesiculares, núcleos atípicos, cromatina margeada, limites celulares bem delimitados, alguns esferóides axonais	Cerebelo
Vasos	Perivasculite mononuclear leve	Telencéfalo- próximo ao núcleo caudato Diencefalo – base do cérebro
Neuropila	Microvacuolização da neuropila (edema)	Telencéfalo- próximo ao hipocampo
	Focos de gliose e microgliose na neuropila com inflamação composta por macrófagos e nos focos inflamatórios há esferóides axonais.	Diencefalo - Base do cérebro
<b>Bovino 2</b>		
Neurônios – corpo celular	Cromatólise de pequenos grupos de neurônio de Purkinje / neurônios isolados Neurônios mortos tanto na camada de Purkinje como na molecular (neurônio de Golgi)	Cerebelo
	Alguns neurônios com degeneração focal do R.E.R. (citoplasma com área bem delimitada fosca, por vezes com alteração do núcleo)	Outras áreas do SNC
Neurônios - prolongamentos	presença de raros esferóides axonais	Cerebelo Outras áreas do SNC
Astrócitos	Astroglíose marcada com proliferação de astrócitos vesiculares agrupados (3-7 unidades), muitas vezes no entorno de neurônios (satelitose)	Cerebelo Tronco encefálico (mesencéfalo)-Próximo aos corpos quadrigêmeos Outras áreas do SNC
Neuropila	Vacúolos	Outras áreas do SNC
<b>Bovino 3</b>		
Neurônios – corpo celular	Lesão inicial de cromatólise central	Tronco encefálico - Bulbo
	Neurônios de Purkinje cromatolíticos Alguns neurônios de Purkinje com degeneração focal do R.E.R. (citoplasma com área bem delimitada fosca, por vezes com alteração do núcleo)	Cerebelo
Astrócitos	Astrócitos tumefeitos, citoplasma vesicular, arranjados em grupos (por vezes até 10 unidades) Substância branca com astroglíose e morfologia de astrócitos sutilmente alterada	Outras áreas do SNC



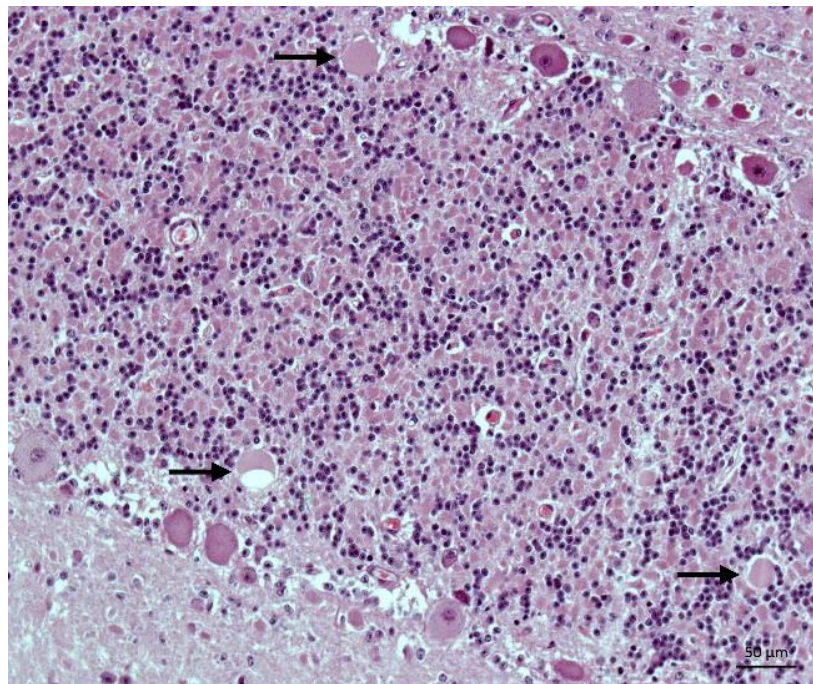
**Figura 12.** Bovino 3. Cerebelo. Neurônio de Purkinje com ausência da substância de Nissl e citoplasma levemente mais eosinofílico (alterações degenerativas) (seta). 63x. H.E. Foto cortesia do professor Aníbal Armién, Universidade de Minnessota (UMN).



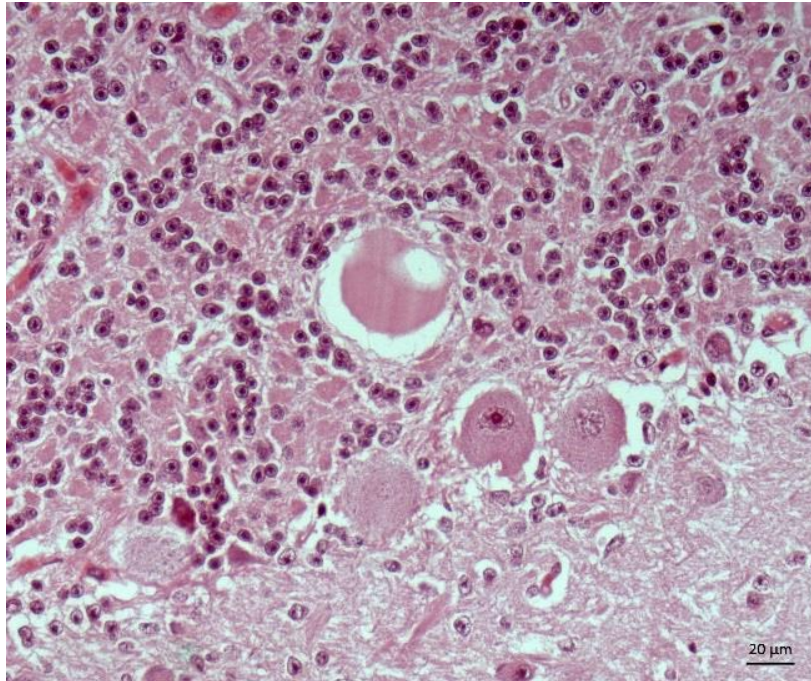
**Figura 13.** Bovino 1. Cerebelo. Neurônio de Purkinje com citoplasma eosinofílico e com cromatólise (necrose neuronal) (seta). 40x. H.E.



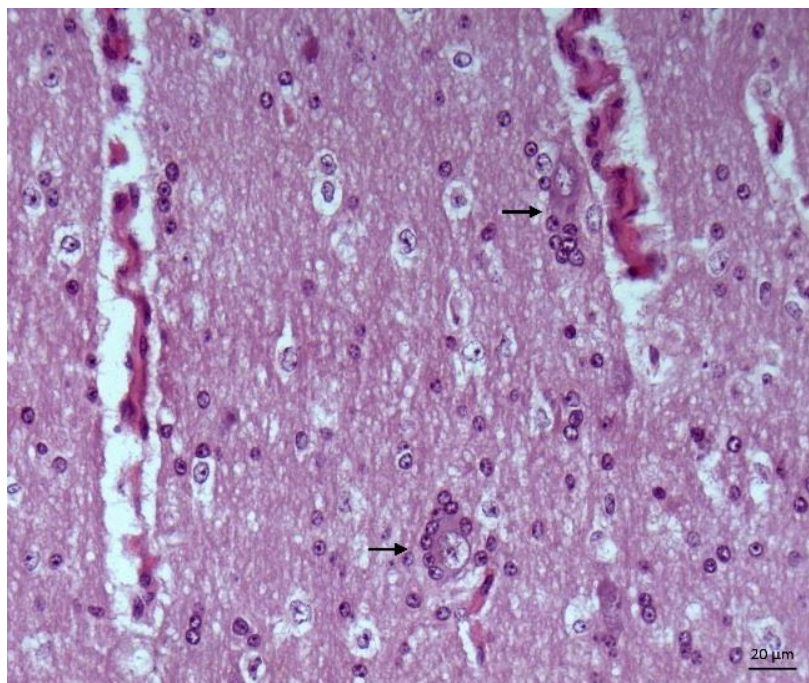
**Figura 14.** Bovino 1. Neurônio com citoplasma eosinofílico e vacuolizado (necrose neuronal). 63x. H.E.



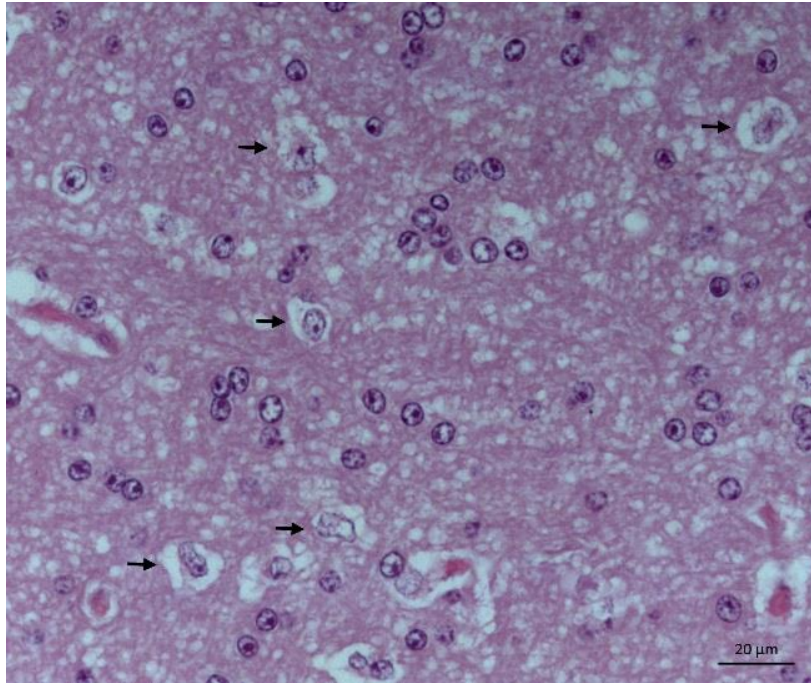
**Figura 15.** Bovino 2. Células de Golgi com citoplasma eosinofílico, com cromatólise e, por vezes, com vacúolos intracitoplasmáticos (neurônios necróticos) (setas). 20x. H.E.



**Figura 16.** Bovino 2. Neurônios com citoplasma eosinofílico, com cromatólise e, por vezes, com vacúolos intracitoplasmáticos (neurônios necróticos). 40x. H.E.



**Figura 17.** Bovino 3. Proliferação astrocitária (astrogliose) e, por vezes, ao redor de neurônios (satelitose) (seta). 40x. H.E.



**Figura 18.** Bovino 3. Astrogliose e tumefação de alguns astrócitos (setas). 63x. H.E.

#### 4.1.5 Histoquímica e imunohistoquímica

A técnica histoquímica utilizando impregnação argêntica pelo método Bielschowsky permitiu a visualização de esferoides axonais dos neurônios de Purkinje (Figura 19)

A imunohistoquímica com os anticorpos anti-calbindina e anti-sinaptofisina evidenciou vacuolização nos neurônios de Purkinje, tanto em dentritos como no corpo celular, de um dos animais (bovino 3) intoxicados por *I. pes caprae* (Figuras 20 e 21).

A amostra enviada foi negativa para o príon da encefalopatia espongiforme bovina (BSE).

#### 4.1.6 Análise lectinohistoquímica

Das 14 lectinas testadas, 1 lectina (**SJA**) não apresentou reatividade, tanto no animal sem lesão como nos outros animais testados para comparação.

Seis lectinas (**Con-A**, **WGA**, **PSA**, **LCA**, **PHA-E** e **sWGA**) apresentaram marcação na borda dos vacúolos intracitoplasmático nos neurônios afetados (Purkinje e/ou Golgi) de animais intoxicados por *Sida carpinifolia* (Figuras 22, 24 e 26), porém não houve reatividade nos animais intoxicados por *I. pes caprae* e *I. asarifolia*. Nestes animais houve apenas leve reatividade em grânulos citoplasmáticos (aparentemente substância de Nissl) de neurônios com 10 lectinas (**Con-A**, **SBA**, **WGA**, **DBA**, **UEA**, **GSL**, **PSA**, **LCA**, **PHA-E** e **PHA-L**); houve variação no número de neurônios marcados por estas lectinas (Figuras 23, 25 e 27). Com a lectina (**PHA-E**) houve marcação na membrana citoplasmática de neurônios de Golgi nos **bovinos 1 e 3** intoxicados por *I. pes caprae*.

A lectina **sWGA** também marcou a membrana citoplasmática das células granulares do cerebelo no animal sem lesão, além do endotélio do animal sem lesão, dos **bovinos 1 e 2** e do animal intoxicado por *I. asarifolia*.

Em alguns neurônios de Purkinje, células granulares e neurônios de Golgi houve leve reatividade à lectina **SBA**, achado também verificado no animal intoxicado por *I. asarifolia* e em um animal intoxicado por *I. pes caprae* (bovino 2). Não houve marcação neuronal para a lectina **SBA** no animal intoxicado por *Sida carpinifolia*.

A lectina **DBA** apresentou discreta marcação citoplasmática em neurônio de Purkinje e de Golgi no animal sem lesão e em dois bovinos intoxicados por *I. pes caprae* (**bovinos 1 e 2**). Já no **bovino 3** e no animal intoxicado por *Sida carpinifolia*, não houve marcação neuronal apenas em substância branca. Não houve reatividade à lectina **DBA** no animal intoxicado por *I. asarifolia*.

Com o uso da lectina **UEA**, houve marcação citoplasmática em células de Purkinje e de Golgi, mais intensa no animal sem lesão que nos **bovinos 1 e 2** intoxicados por *I. pes caprae*; o **bovino 3** teve resultado similar ao animal intoxicado por *Sida carpinifolia*, sem marcação de neurônios. Não houve reatividade à lectina **UEA** no animal intoxicado por *I. asarifolia*.

A lectina **RCA** não marcou neurônios, apenas prolongamentos celulares. No **bovino 1** e no animal intoxicado por *Sida carpinifolia* não houve reatividade em nenhuma estrutura.

Houve evidente marcação em prolongamentos celulares na região entre a camada de Purkinje e da granulosa e ao redor de alguns neurônios de Purkinje e de Golgi (aparentemente prolongamentos de axônios) à lectina **PNA**. Não houve reatividade com neurônios em nenhum dos casos avaliados.

A lectina **GSL** apresentou forte reatividade para endotélio tanto no animal sem lesão como nos animais doentes. Os neurônios de Purkinje apresentaram reatividade no animal sem lesão e nos animais intoxicados por *I. pes caprae* e *I. asarifolia*. Nos **bovinos 1 e 2**, houve ainda reação citoplasmática em neurônios de Golgi. *Sida carpinifolia* não apresentou reatividade em neurônios à essa lectina

Notou-se reatividade à lectina **PHA-L** no citoplasma de neurônios de Purkinje no animal sem lesão e nos animais intoxicados por *I. pes caprae* e por *I. asarifolia*. Nos **bovinos 2 e 3** houve marcação citoplasmática em alguns neurônios de Golgi. Não houve reatividade neuronal à lectina **PHA-L** no animal intoxicado por *Sida carpinifolia*.

Os resultados estão descritos no quadro 4.



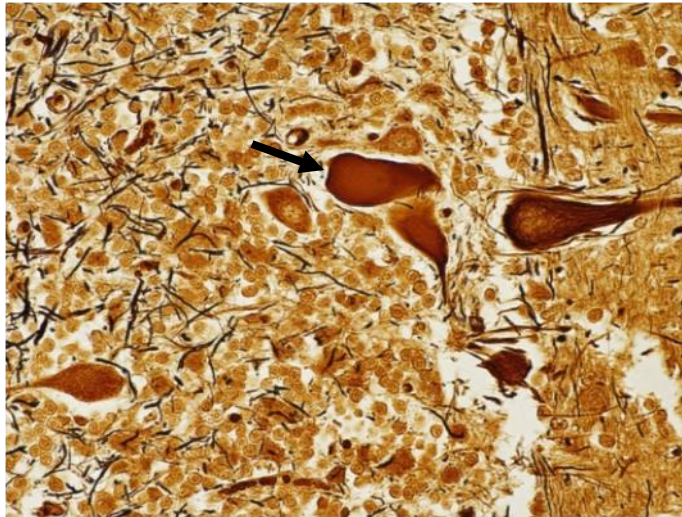
**Quadro 4.** Lectinohistoquímica do animal sem lesão e de animais intoxicados por *Ipomoea pes caprae*, *Ipomoea asarifolia* e *Sida carpinifolia*.

	Animal sem lesão	Bovino 1 ( <i>I. pes caprae</i> )	Bovino 2 ( <i>I. pes caprae</i> )	Bovino 3 ( <i>I. pes caprae</i> )	Animal intoxicado por <i>I. asarifolia</i>	Animal intoxicado por <i>Sida carpinifolia</i>	
Lectinas	Con-A	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> + <b>Gran.</b> Glom. Cereb. + / C.Golgi + à ++(+) Fin. gran. <b>S.B.</b> Céls. Glia ++ Fin. gran	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> ++ <b>Gran.</b> Glom. Cereb. + / C.Golgi + à ++ Fin. gran. <b>S.B.</b> Céls. Glia ++ Fin. gran	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> ++ <b>Gran.</b> Glom. Cereb. + / C.Golgi + Fin. gran. <b>S.B.</b> Céls. Glia ++ Fin. gran	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> ++ <b>Gran.</b> Glom. Cereb. + / C.Golgi + à ++ Fin. gran. <b>S.B.</b> Céls. Glia ++ Fin. gran	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> + à ++ <b>Gran.</b> Glom. Cereb. + / C.Golgi + à ++ Fin. gran. <b>S.B.</b> Céls. Glia ++ Fin. gran	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> V.I.C. + (bordas) <b>Gran.</b> Glom. Cereb. + / C.Golgi V.I.C. + (bordas) <b>S.B.</b> Céls. Glia ++ Fin. gran
	SBA	<b>Endot.</b> +++ (todas camadas) <b>Purk.</b> (+) Fin. gran. <b>Gran.</b> PN ++ / C. Golgi (+) Fin. gran.	<b>Endot.</b> +++ (todas camadas) <b>S.B.</b> Prolong. +	<b>Endot.</b> +++ (todas camadas) <b>Purk.</b> (+) Fin. gran. <b>S.B.</b> Prolong. +	<b>S.B.</b> Prolong. +	<b>Endot.</b> +++ (todas camadas) <b>Mol.</b> Alguns neur. + <b>Purk.</b> (+) Fin. gran. <b>Gran.</b> C. Golgi (+) Fin. gran.	<b>S.B.</b> Prolong. +
	WGA	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> Algumas (+) Fin. gran. <b>Gran.</b> Glom. Cereb. + <b>S.B.</b> Prolong. (+)	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> Algumas (+) Fin. gran. <b>Gran.</b> Glom. Cereb. + <b>S.B.</b> Prolong. (+)	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> Algumas (+) Fin. gran. <b>Gran.</b> Glom. Cereb. + <b>S.B.</b> Prolong. (+)	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> Algumas (+) Fin. gran. <b>Gran.</b> Glom. Cereb. + <b>S.B.</b> Prolong. +	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> Algumas (+) Fin. gran. <b>Gran.</b> Glom. Cereb. + <b>S.B.</b> Prolong. (+)	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> V.I.C. + (bordas) <b>Gran.</b> Glom. Cereb. + / C.Golgi V.I.C. + (bordas) <b>S.B.</b> Prolong. (+)
	DBA	<b>Purk.</b> Alguma (+) <b>Gran.</b> Algumas C.Golgi (+) <b>S.B.</b> Prolong. (+)	<b>Purk.</b> Algumas (+) <b>Gran.</b> Algumas C.Golgi (+) <b>S.B.</b> Prolong. +	<b>Purk.</b> Algumas (+) <b>Gran.</b> Algumas C.Golgi (+) <b>S.B.</b> Prolong. +	<b>S.B.</b> Prolong. +	-	<b>S.B.</b> Prolong. +
	UEA	<b>Purk.</b> (+) à ++(+) <b>Gran.</b> C. Golgi (+) à ++(+) <b>S.B.</b> Prolong. +	<b>Purk.</b> Algumas (+) <b>Gran.</b> Algumas C.Golgi (+) <b>S.B.</b> Prolong. +	<b>Purk.</b> Algumas (+) <b>Gran.</b> Algumas C.Golgi (+) <b>S.B.</b> Prolong. +	<b>S.B.</b> Prolong. +	<b>S.B.</b> alguns endot. +++	<b>S.B.</b> Prolong. +
	RCA	<b>S.B.</b> Prolong. (+)	-	<b>S.B.</b> Prolong. (+)	<b>S.B.</b> Prolong. (+)	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Gran.</b> Glom. Cereb. + <b>S.B.</b> Prolong. (+) à +	-
	PNA	<b>Mol.</b> Prolong. (+) <b>S.B.</b> Céls. Glia ++ Fin. gran./ Prolong. +	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> Prolong. + ao redor de algumas <b>Gran.</b> Prolong. ++ (entre camada Purk. e Gran.) e + ao redor de algumas C. Golgi / Glom. Cereb. (+) <b>S.B.</b> Prolong. +	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> Prolong. + ao redor de algumas <b>Gran.</b> Prolong. ++ (entre camada Purk. e Gran.) e + ao redor de algumas C. Golgi / Glom. Cereb. (+)/ <b>S.B.</b> Prolong. ++(+)	<b>Gran.</b> Prolong. (+) (entre camada Purk. e Gran.) <b>S.B.</b> Prolong. +	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Gran.</b> Prolong. (+) (entre camada Purk. e Gran.) <b>S.B.</b> algumas céls. Glia + Fin. gran./ Prolong. +	<b>Mol.</b> Prolong. + (+) <b>Gran.</b> Prolong. (+) (entre camada Purk. e Gran.) e + ao redor de algumas C. Golgi / Glom. Cereb. ++(+) <b>S.B.</b> Prolong. + (+)
<p>Legenda: - = ausência de marcação/ (+) = sutil/ += leve/ +++ = moderado/ ++++ = intenso/ Mol.= camada molecular/ Purk.= camada de Purkinje/ Gran.= camada granulosa/ S.B.= substância branca/ M.C. = membrana citoplasmática/ P.N= perinuclear/ Citop.= intracitoplasmática /C.G.= células granulosas/C.Golgi= células de Golgi/Céls.= células/ Fin. gran.= finamente granular/Prolong.= prolongamentos celulares/Endot.= endotélio/ Glom. Cereb. = glomerulos cerebelares/ Neur. = neurônios/ V.I.C. = vacúolo intra-citoplasmático</p>							

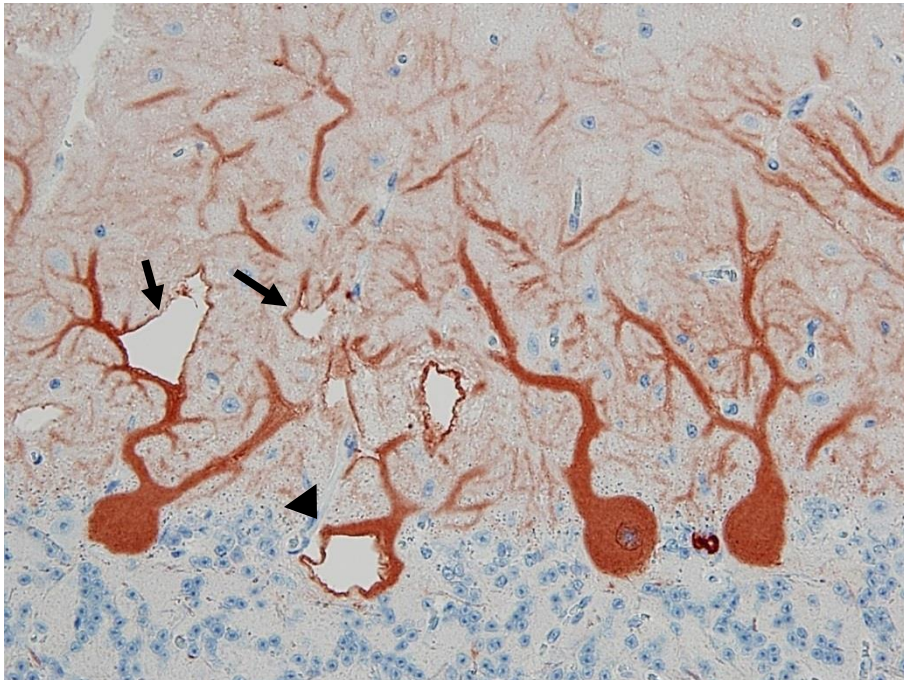
**Quadro 4. Continuação**

	Animal sem lesão	Bovino 1 ( <i>I. pes caprae</i> )	Bovino 2 ( <i>I. pes caprae</i> )	Bovino 3 ( <i>I. pes caprae</i> )	Animal intoxicado por <i>I. asarifolia</i>	Animal intoxicado por <i>Sida carpinifolia</i>	
Lectinas	GSL	<b>Endot.</b> +++ (todas camadas) <b>Mol.</b> Prolong. (+) <b>Purk.</b> (+) à ++ <b>Gran.</b> Algumas C.Golgi (+) <b>S.B.</b> Prolong. +	<b>Endot.</b> +++ (todas camadas) <b>Mol.</b> Prolong. (+) <b>Purk.</b> (+) à ++ <b>Gran.</b> Algumas C.Golgi (+) <b>S.B.</b> Prolong. +	<b>Endot.</b> +++ (todas camadas) <b>Mol.</b> Citop. alguns neur. +/ Prolong. (+) <b>Purk.</b> (+) à + <b>Gran.</b> Algumas C.Golgi (+) <b>S.B.</b> algumas céls. Glia + Fin. gran/ Prolong. +	<b>Endot.</b> +++ (todas camadas) <b>Purk.</b> Algumas (+) <b>S.B.</b> Prolong. +	<b>Endot.</b> +++ (todas camadas) <b>Mol.</b> Citop. alguns neur. +/ Prolong. + <b>Purk.</b> + à ++ <b>Gran.</b> C.Golgi + à +(+) ) <b>S.B.</b> Prolong. +	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Gran.</b> Glom. Cereb. (+) <b>S.B.</b> Prolong. +
	PSA	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> (+) Fin. gran. <b>Gran.</b> Glom. Cereb. (+)/ Algumas C.Golgi (+) Fin. gran. <b>S.B.</b> Prolong. (+)	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> (+) Fin. gran. <b>Gran.</b> Glom. Cereb. (+)/ Alguas C.Golgi (+) Fin. gran. <b>S.B.</b> Prolong. (+)	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> (+) Fin. gran. <b>Gran.</b> Glom. Cereb. (+)/ Alguas C.Golgi (+) Fin. gran. <b>S.B.</b> Prolong. (+)	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> (+) Fin. gran. <b>Gran.</b> Glom. Cereb. (+)/ Alguas C.Golgi (+) Fin. gran. <b>S.B.</b> Prolong. (+)	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> (+) à + Fin. gran. <b>Gran.</b> Glom. Cereb. +/ Alguas C.Golgi (+) Fin. gran. <b>S.B.</b> Prolong. (+)	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> V.I.C. ++ (bordas) <b>Gran.</b> Glom. Cereb. +/ C.Golgi V.I.C. ++ (bordas) <b>S.B.</b> Prolong. +
	LCA	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> + Fin. gran. <b>Gran.</b> Glom. Cereb. +/ C.Golgi + Fin. gran.	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> + Fin. gran. <b>Gran.</b> Glom. Cereb. +/ C.Golgi + Fin. gran.	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> + Fin. gran. <b>Gran.</b> Glom. Cereb. +/ C.Golgi + Fin. gran.	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> + Fin. gran. <b>Gran.</b> Glom. Cereb. +/ C.Golgi + Fin. gran.	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> + Fin. gran. <b>Gran.</b> Glom. Cereb. +/ C.Golgi + Fin. gran. <b>S.B.</b> Prolong. (+)	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> V.I.C. ++ (bordas) <b>Gran.</b> Glom. Cereb. +/ C.Golgi V.I.C. ++ (bordas) <b>S.B.</b> Prolong. (+)/V.I.C. ++ (bordas) em céls. glia
	PHA-E	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> + Fin. gran. <b>Gran.</b> Glom. Cereb. +/ C.Golgi + Fin. gran. <b>S.B.</b> Prolong. (+)	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> + Fin. gran. (algumas com M.C. +) <b>Gran.</b> Glom. Cereb. +/ C.Golgi + Fin. gran (algumas com M.C. ++) <b>S.B.</b> Prolong. (+)	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> + Fin. gran. <b>Gran.</b> Glom. Cereb. + <b>S.B.</b> Prolong. (+)	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> + Fin. gran. (algumas com M.C. +) <b>Gran.</b> Glom. Cereb. +/ C.Golgi + Fin. gran (algumas com M.C. +) <b>S.B.</b> Prolong. (+)	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> Fin. gran. + <b>Gran.</b> Glom. Cereb. +/ C.Golgi + Fin. gran. <b>S.B.</b> Prolong. (+)/Céls. Glia ++ Fin. gran	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> V.I.C. + (bordas) <b>Gran.</b> Glom. Cereb. (+)/ C.Golgi V.I.C. + (bordas) <b>S.B.</b> Prolong. (+)
	PHA-L	<b>Mol.</b> Prolong. (+) <b>Purk.</b> + Fin. gran. (algumas com M.C. +) <b>Gran.</b> Glom. Cereb. (+)	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> + Fin. gran. (algumas com M.C. +) <b>Gran.</b> Glom. Cereb. +/ C.Golgi + Fin. gran (algumas com M.C. +) <b>S.B.</b> Prolong. (+)	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> (+) Fin. gran. [algumas com M.C. (+) ] <b>Gran.</b> Glom. Cereb. + <b>S.B.</b> Prolong. (+)	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> (+) Fin. gran. [algumas com M.C. (+) ] <b>Gran.</b> Glom. Cereb. +/ C.Golgi (+) Fin. gran [algumas com M.C. (+)] <b>S.B.</b> Prolong. (+)	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Purk.</b> + Fin. gran. (algumas com M.C. +) <b>Gran.</b> Glom. Cereb. +/ C.Golgi + Fin. gran (algumas com M.C. +) <b>S.B.</b> Céls. Glia ++ Fin. gran	<b>Mol.</b> Prolong. + <b>Gran.</b> Glom. Cereb. + <b>S.B.</b> Prolong. (+)/Céls. Glia + Fin. gran
	SJA	-	-	-	-	-	-
	sWGA	<b>Endot.</b> ++ (todas camadas) <b>Mol.</b> Prolong. + <b>Gran.</b> C.G. + M.C./ Glom. Cereb. +	<b>Endot.</b> + (todas camadas) <b>S.B.</b> Prolong. +	<b>Endot.</b> + (todas camadas) <b>Mol.</b> (+) <b>Gran.</b> Glom. Cereb. (+) <b>S.B.</b> Prolong. (+)	<b>S.B.</b> Prolong. +	<b>Endot.</b> +++ (camada mol. e gran.) <b>Mol.</b> Prolong. (+) <b>Gran.</b> Glom. Cereb. (+) <b>S.B.</b> Prolong. (+)/Céls. Glia ++ Fin. gran	<b>Mol.</b> Prolong. (+) <b>Purk.</b> V.I.C. +++ (bordas) <b>Gran.</b> Glom. Cereb. (+)/ C.Golgi V.I.C. +++ (bordas) <b>S.B.</b> Prolong. (+)/Céls. Glia ++ Fin. gran

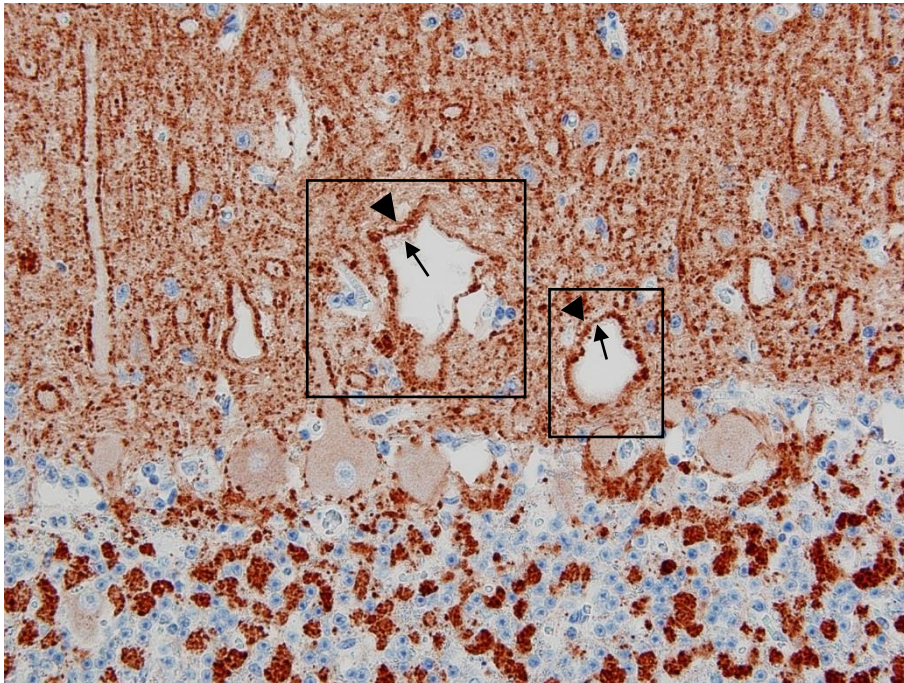
Legenda: - = ausência de marcação/ (+) = sutil/ += leve/ +++= moderado/ ++++= intenso/ Mol.= camada molecular/ Purk.= camada de Purkinje/ Gran.= camada granulosa/ S.B.= substância branca/ M.C. = membrana citoplasmática/ P.N= perinuclear/ Citop.= intracitoplasmática /C.G.= células granulosas/C.Golgi= células de Golgi/Céls.= células/ Fin. gran.= finamente granular/Prolong.= prolongamentos celulares/Endot.= endotélio/ Glom. Cereb. = glomérulos cerebelares/ Neur. = neurônios/ V.I.C. = vacúolo intra-citoplasmático



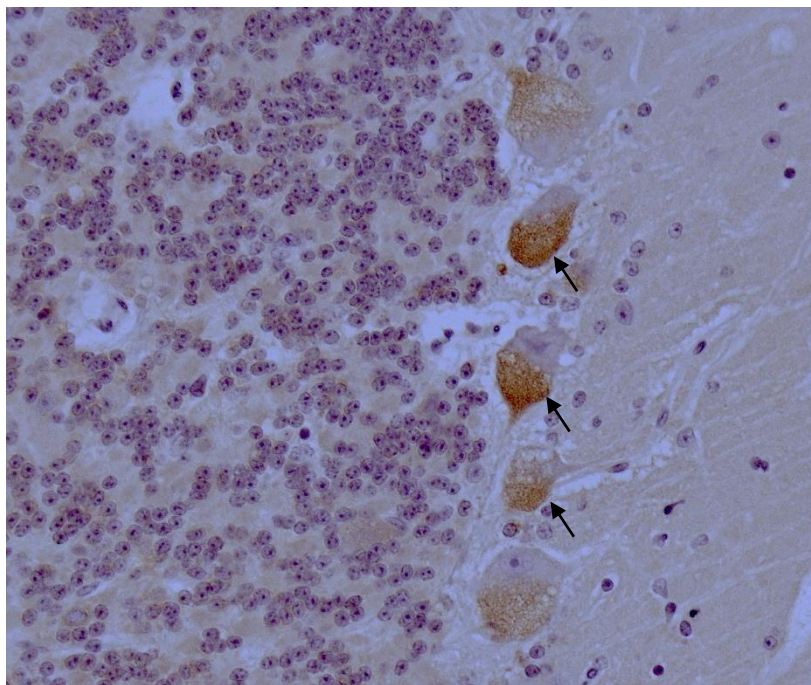
**Figura 19.** Bovino 3. Neurônios de Purkinje com axônio dilatado e necrótico (esferóide axonal) e coloração mais escurecida (seta). Histoquímica-Bielschowsky, 40x. Foto cortesia do professor Aníbal Armién, UMN.



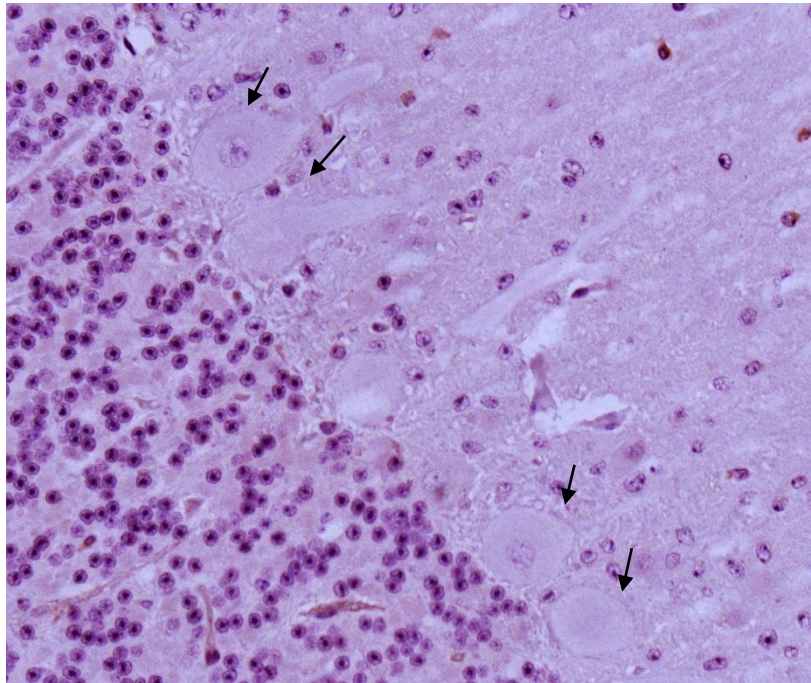
**Figura 20.** Bovino 3. Vacuolização dos dendritos (seta) e do corpo celular (cabeça de seta) dos neurônios de Purkinje. Imunohistoquímica- Calbindina, 40x. Foto cortesia do professor Aníbal Armién, UMN



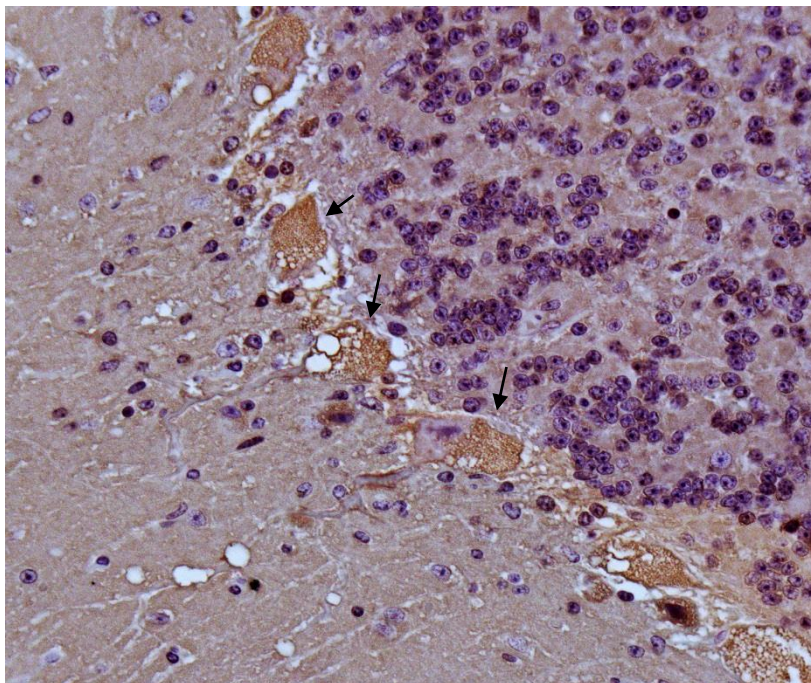
**Figura 21.** Bovino 3. Vacuolização dos dendritos (seta) de neurônios de Purkinje na camada molecular (quadrado). Limites dos dendritos das células de Purkinje (seta) e sinapses aferentes (cabeça de seta). Imunohistoquímica - Sinaptofisina, 40x. Foto cortesia do professor Aníbal Armién, UMN.



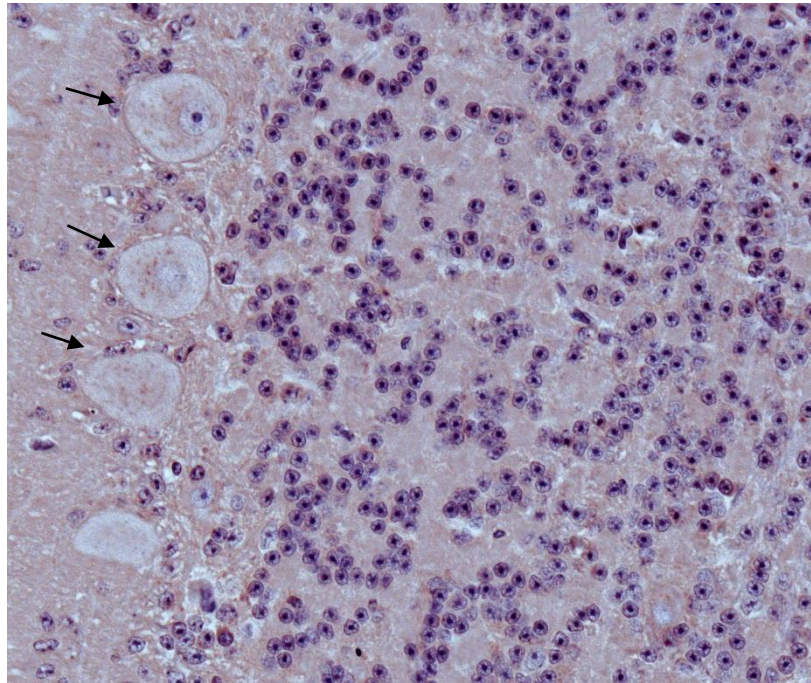
**Figura 22.** Animal intoxicado por *Sida carpinifolia*. Vacúolos intracitoplasmáticos com armazenamento e bordas marcadas (seta) em neurônios de Purkinje. Lectinohistoquímica - sWGA, 40x.



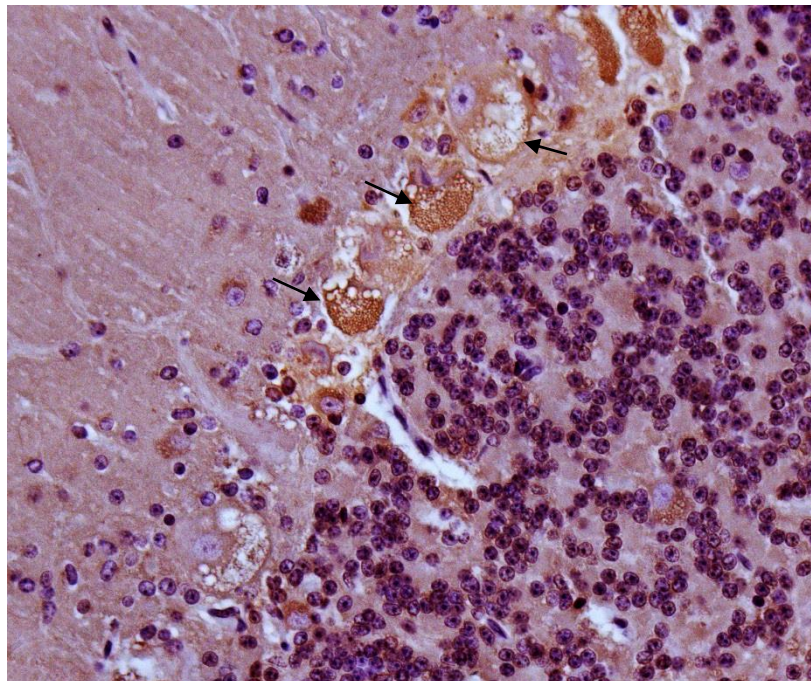
**Figura 23.** Bovino 1. Neurônios de Purkinje sem marcação (seta). Lectinohistoquímica-sWGA, 40x.



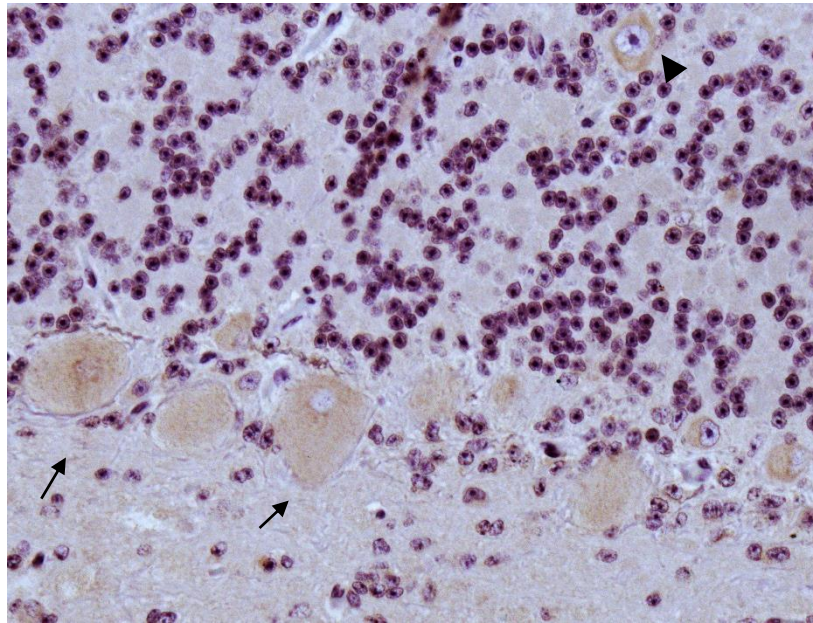
**Figura 24.** Animal intoxicado por *Sida carpinifolia*. Vacúolos intracitoplasmáticos com armazenamento e bordas marcadas (seta) em neurônios de Purkinje. Lectinohistoquímica - WGA, 40x



**Figura 25.** Bovino 1. Neurônios de Purkinje com marcação sutil no citoplasma, levemente granular (seta). Lectinohistoquímica - WGA, 40x.



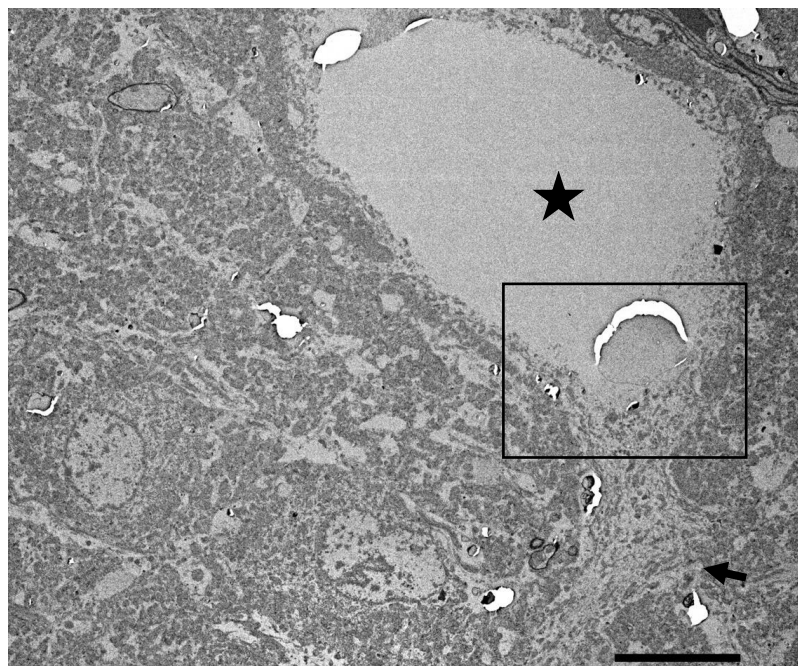
**Figura 26.** Animal intoxicado por *Sida carpinifolia*. Vacúolos intracitoplasmáticos com armazenamento e bordas marcadas (seta), em neurônios de Purkinje. Lectinohistoquímica- Con-A, 40x.



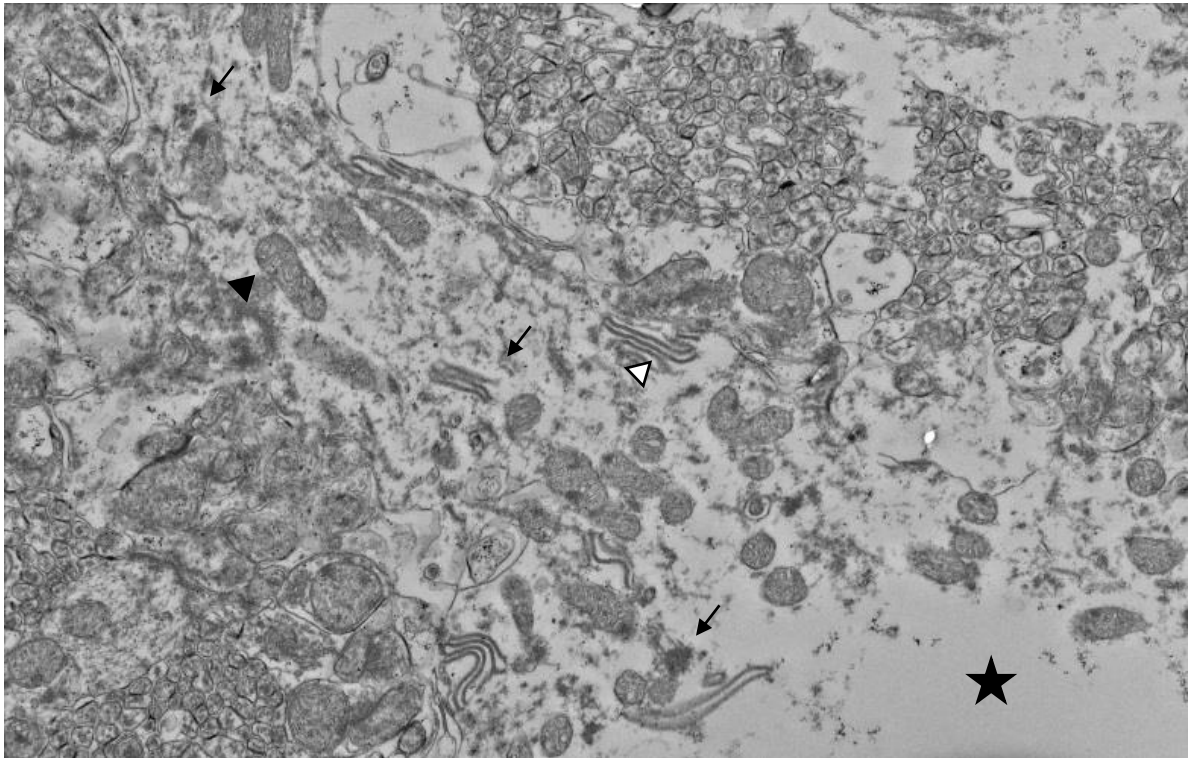
**Figura 27.** Bovino 1. Neurônios de Purkinje com marcação sutil no citoplasma, levemente granular (seta). Lectinohistoquímica - Con-A, 40x.

#### 4.1.7 Microscopia eletrônica

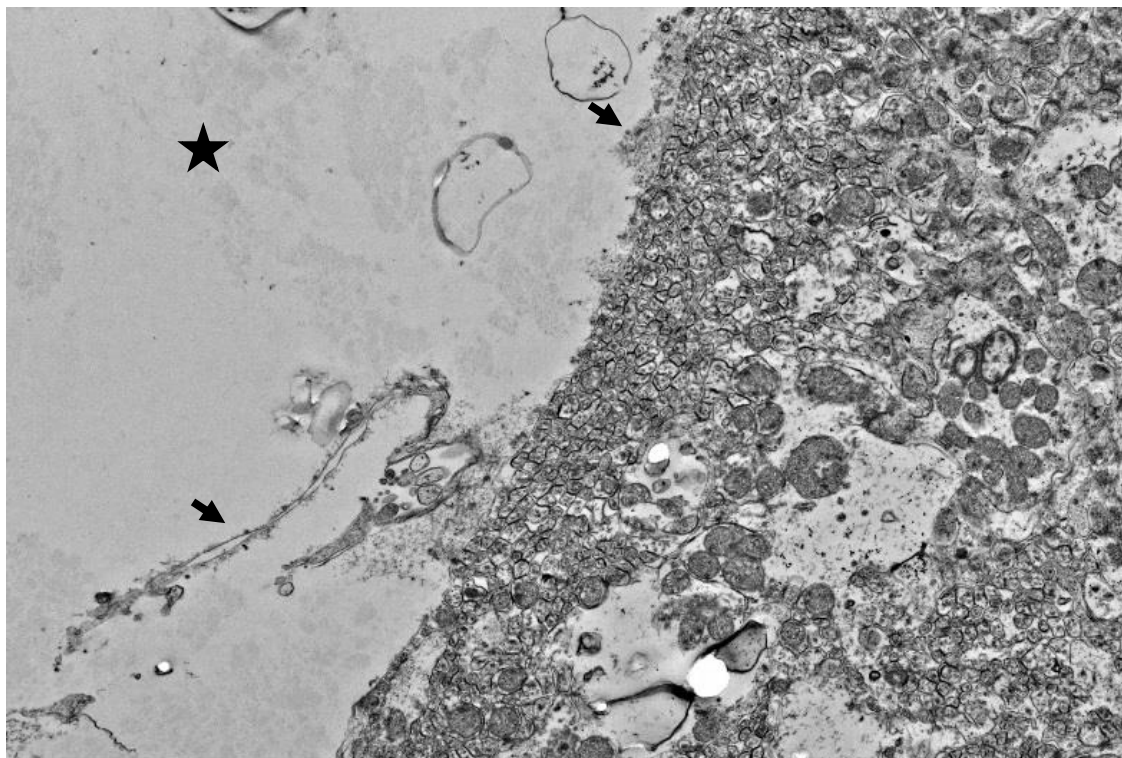
A análise ultraestrutural revelou lise e degeneração hidrópica nas organelas e no citoesqueleto do corpo celular das células de Purkinje e lise e degeneração hidrópica segmentar das organelas e do citoesqueleto dos dendritos (Figuras 28, 29 e 30).



**Figura 28.** Bovino 1. Parte mantida do dendrito do neurônio de Purkinje (seta), interface de uma porção normal e uma porção lisada (quadrado) e área vacuolizada dessa mesma estrutura (estrela). Microscopia eletrônica, 4000x. Foto cortesia do professor Aníbal Armién, UMN.



**Figura 29.** Bovino 1. Vacúolo em uma porção do dendrito do neurônio de Purkinje (estrela) com desintegração do citoesqueleto (microtúbulos e filamentos intermediários) (seta preta) e em algumas áreas essas estruturas já estão desintegradas (seta branca). Cabeça de seta sinaliza mitocôndria e cabeça de seta branca sinaliza corpo lamelar (RER). Microscopia eletrônica, 4000x. Foto cortesia do professor Aníbal Armién, UMN.



**Figura 30.** Bovino 1. Vacúolo em uma porção do dendrito do neurônio de Purkinje (estrela) com fragmentos de dendrito (seta preta). Microscopia eletrônica, 4000x. Foto cortesia do professor Aníbal Armién, UMN.



#### **4.2. Animal intoxicado experimentalmente**

O bovino submetido à intoxicação experimental ingeriu a planta espontaneamente no cocho com variações da quantidade diária de 30 gramas por kg de peso vivo e apresentava predileção pelas folhas, mas ingeria o caule misturado às mesmas. O animal bebeu água e manteve o apetite durante todo o experimento.

O primeiro sinal nervoso foi o tremor constante da cabeça, observado a partir do 12º dia após início do fornecimento da planta. A partir do 14º dia verificou-se aumento do tremor, discreta ataxia e postura anormal do animal. No 18º dia em diante, o animal apresentou intensa sialorréia e desidratação e tempo de preenchimento capilar de três segundos seguido de discreta enoftalmia. O fornecimento da planta foi mantido até o 28º dia e a sintomatologia desapareceu quatro dias após a suspensão.

Com relação aos exames laboratoriais, a única alteração encontrada foi a policitemia caracterizada por aumento do hematócrito entre 42 e 44%. Os demais índices avaliados estavam normais.

## 5 DISCUSSÃO

Embora já se conhecesse o efeito tóxico de algumas plantas do gênero *Ipomoea* em ruminantes, não havia, na literatura científica, informações ou descrições sobre a ocorrência de intoxicação por *Ipomoea pes caprae* (TOKARNIA et al., 2012). O diagnóstico do surto foi baseado no quadro clínico, nos dados epidemiológicos (escassez de forragem na ilha, sinais inequívocos de ingestão de grande quantidade de *I. pes caprae* pelos bovinos e na remissão dos sintomas quando se retiravam os animais das áreas com essa planta), confirmados pelos achados histopatológicos, histoquímicos e lectino-histoquímicos e pela reprodução da síndrome tremorgênica pela ingestão de *I. pes caprae*. A similaridade dos achados clínico-patológicos observados neste surto com os verificados em animais intoxicados por *I. asarifolia*, caracterizaram a intoxicação por *I. pes caprae* como síndrome tremorgênica.

Apesar da planta *Ipomoea pes caprae* ser encontrada extensivamente sobre as dunas das praias em toda região litorânea brasileira (BARNI; FILHO; COUTO, 2009), essa é a primeira descrição de animais intoxicados por essa planta. Nesse caso é importante ressaltar que os animais viviam em uma condição extremamente particular, pois eram mantidos por longos períodos em uma ilha em que a carência de forragem era muito acentuada; os animais só tinham à disposição *Ipomoea pes caprae* e outra planta rasteira de baixa palatabilidade e, ainda sim, escassa. A fome causada por essa restrição na dieta foi, nesse surto, o fator desencadeador ou facilitador da intoxicação (PESSOA; MEDEIROS; RIET-CORREA, 2013).

Apesar de surtos de intoxicação por essa planta serem esporádicos e ocorrerem em condições muito específicas, com pouca importância econômica, é necessário o reconhecimento desta intoxicação para o diagnóstico diferencial das síndromes neurológicas em bovinos.

No presente surto verificou-se a ocorrência de intoxicação em condições naturais em bovinos tanto no período seco quanto no chuvoso, da mesma forma que o relatado por autores que estudaram intoxicações por *I. asarifolia* nas regiões nordeste e norte do país (RIET-CORREA et al., 2003; BARBOSA et al., 2005; TORTELLI et al., 2008). De fato, apenas bovinos ingeriam *Ipomoea pes caprae* na ilha, dado este observado em todas as visitas realizadas à propriedade. Ao longo do estudo observou-se que, embora 3 equinos e um carneiro fossem criados em conjunto com os bovinos, não apresentaram nenhum sinal de intoxicação ou histórico de mortalidade. Com relação aos equinos, outros autores, entre eles Riet-Correa; Soares; Mendes (1998) e Tokarnia et al. (2012) também verificaram que os

equinos não ingeriam plantas desse gênero, provavelmente por serem mais seletivos em sua alimentação.

Os animais intoxicados por *Ipomoea pes caprae* apresentaram tremores (em geral na fase inicial havia apenas balançar discreto da cabeça) e incoordenação motora, sinais clínicos que também foram observados, em variados graus e intensidade, em bovinos intoxicados por *Ipomoea asarifolia* (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1960), *Phalaris angusta* (GAVA et al., 1999; SOUSA; IRIGOYEN, 1999), *Marsdenia* sp. ((RIET-CORREA et al., 2004; SILVA et al., 2006; PESSOA et al., 2011; NETO et al., 2013), *Polygala klotzschii* (TOKARNIA; DÖBEREINER; CANELLA, 1976), *Ricinus communis* (TOKARNIA, DÖBEREINER, CANELLA, 1975; DÖBEREINER, TOKARNIA, CANELLA, 1981; TOKARNIA et al., 2012), *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* (BALOGH et al., 1999; ANTONIASSI et al., 2007; ARMIÉN et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2009; TOKARNIA et al., 2012), *Sida carpinifolia* (FURLAN et al., 2008; PEDROSO et al., 2010), *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* (MEDEIROS et al., 2004; GUARANÁ et al., 2011; REGO et al., 2012), *Claviceps paspali* (RIET-CORREA et al., 1983b), *Neotyphodium lolii* (MUNDAY; MASON, 1967; ODRIOZOLA et al., 1993; MIYAZAK et al., 2001; MIYAZAK et al., 2007), *Cynodon dactylon* (ODRIOZOLA et al., 2001; RIVERO et al., 2011) e *Aspergillus clavatus* (LORETTI et al., 2003b; MCKENZIE et al., 2004; SABATER-VILAR et al., 2004; BEZERRA et al., 2009a; OLIVEIRA, 2016).

Tremores também podem ser observados em casos de encefalopatia hepática causada por plantas (MENDEZ; RIET-CORREA, 2001; KARAM et al., 2004; LUCENA et al., 2010), raiva (ACHA; SZYFRES, 2003), polioencefalomalácia (LEMO; NAKAZATO, 2001; SANT'ANA et al., 2009a; SANT'ANA et al., 2009b), meningoencefalite por BoHV-5 (SALVADOR ET AL., 1998; COLODEL et al., 2002c; ELIAS, SCHILD, RIET-CORREA, 2004; RIET-CORREA et al., 2006; RISSI et al., 2006).

Como em outro relato científico (RIVERO et al., 2011), houve algumas mortes causadas por traumatismos e afogamento (bovino 2 desse surto) ocorridos durante a manifestação das crises nervosas. A intoxicação por *I. pes caprae* tem evolução crônica e o mais provável é que a morte seja secundária à acidentes, como relatado em casos de intoxicação por *Solanum fastigiatum* (RIET-CORRE et al., 1983). Houve aborto também (bovino 1) após crises tremorgênicas, porém como foi um único caso, não foi possível estabelecer a patogênese. É provável que o aborto tenha sido decorrente de traumas (quedas) que ocorriam durante a manifestação dos sinais clínicos.

O tipo de tremor observado na intoxicação por *I. pes caprae* difere do tremor comumente observado na doença de Parkinson em humanos, pois o característico nessa doença é o tremor de repouso (DEUSCHL; PAPENGUT; HELLRIEGEL, 2012) e nos animais intoxicados os tremores foram predominantemente de ação, semelhante aos tremores generalizados descritos em casos de intoxicação por penitrem A em humanos (LEWIS et al., 2005) e ao de síndromes tremorgênicas em animais, como intoxicação por *Ipomoea asarifolia* (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1960; RIET-CORREA et al., 2003; ARAÚJO et al., 2004; BARBOSA et al., 2005; BARBOSA et al., 2012)

Embora estudos tenham demonstrado efeito hipoglicemiante do extrato alcoólico das folhas de *I. pes caprae* (KAHN et al., 1994), não houve sintomatologia compatível com esse quadro nos animais avaliados nesse estudo, bem como os níveis glicêmicos do animal intoxicado experimentalmente estava dentro dos parâmetros normais. A hipoglicemia é um distúrbio metabólico observado em vacas com cetose e pode levar a severas convulsões e coma profundo (CANTILE; YOUSSEF, 2016), quadros que não foram observados nesse estudo. Microscopicamente, quando ocorrem casos de coma prolongado causados por hipoglicemia, é possível observar degeneração neuronal caracterizada por rápida cromatólise, desaparecimento da membrana citoplasmática e, em seguida, rarefação do citoplasma, com picnose, excentricidade e desaparecimento do núcleo (CANTILE; YOUSSEF, 2016), achados esses diferentes dos observados nos animais intoxicados por *I. pes caprae*. Ainda, nos casos de hipoglicemia o cerebelo raramente é afetado (CANTILE; YOUSSEF, 2016), por outro lado, na intoxicação por *I. pes caprae* as lesões ocorreram sobretudo nesta área.

No caso experimental da intoxicação por *Ipomoea pes caprae*, o início dos sintomas foi mais tardio que os dois a quatro dias verificados na intoxicação experimental em bovinos por por *I. asarifolia* (BARBOSA et al., 2005). As doses diárias ingeridas pelo bovino submetido à intoxicação experimental foram semelhantes às utilizadas por Barbosa et al. (2005) em experimentos com *I. asarifolia*. A policitemia relativa observada no animal intoxicado experimentalmente resultou da redução do volume causado pela desidratação (em parte causada pela marcada sialorréia), alteração essa já observada em caprinos intoxicados experimentalmente por favas de *Stryphnodendron fissuratum* (MENDONÇA et al., 2010).

Ausência de **lesões macroscópicas** nos animais acometidos assemelha-se ao descrito em outras síndromes tremorgênicas como no caso de intoxicação por *I. asarifolia* (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1960; RIET-CORREA et al., 2003; BARBOSA et al., 2005) e micotoxicoses tremorgênicas como intoxicação por *Cynodon dactylon* (ODRIOZOLA et al., 2001), porém a grande quantidade de pecíolos e folhas de *I. pes caprae*

no conteúdo ruminal dos animais com síndrome tremorgênica é um achado importante para o diagnóstico pós-mortem; fato esse citado também na intoxicação por outras plantas (ODRIOZOLA et al., 2001; BARBOSA et al., 2012; TOKARNIA et al., 2012).

Algumas espécies de *Ipomoea* causam classicamente doença do armazenamento, em que os princípios tóxicos swainsonina e calisteginas agem, respectivamente, como inibidores das manosidases e glicosidases e, desta forma, levam ao acúmulo de oligossacarídeos no citoplasma das células (MOLYNEUX et al., 1995), dentre elas *Ipomoea carnea* subs. *fistulosa* (BALOGH et al., 1999; ANTONIASSI et al., 2007; ARMIÉN et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2009; TOKARNIA et al., 2012), *Ipomoea riedelii* (BARBOSA et al., 2006; BARBOSA et al., 2007), *Ipomoea sericophylla* e *Ipomoea verbascoidea* (BARBOSA et al., 2006; BARBOSA et al., 2007; MENDONÇA et al., 2011; MENDONÇA et al., 2012). As principais alterações histológicas observadas nesses casos são **tumefação e fina vacuolização** de neurônios em diversas áreas do sistema nervoso central, sendo lesões mais proeminentes em cerebelo, sobretudo em neurônios de Purkinje (BARBOSA et al., 2006; ARMIÉN et al., 2007; BARBOSA et al., 2007; MENDONÇA et al., 2011; MENDONÇA et al., 2012). Por vezes essa alteração também é observada em células epiteliais da tireoide, do rim, fígado, pâncreas e de macrófagos; adicionalmente alterações degenerativas incluindo gliose, distrofia neuroaxonal com formação de esferóides, necrose e perda de neurônios foram descritas no SNC (BALOGH et al., 1999; BARBOSA et al., 2006; ANTONIASSI et al., 2007; ARMIÉN et al., 2007; BARBOSA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2009; MENDONÇA et al., 2011; MENDONÇA et al., 2012; TOKARNIA et al., 2012).

Na intoxicação por *Ipomoea pes caprae*, as alterações encontradas nos animais intoxicados foram lesões degenerativas e necróticas em neurônios e câmaras de digestão, em parte similares às descritas em casos de intoxicação por plantas do gênero *Ipomoea* que causam doença do armazenamento, contudo não foram observadas tumefação e fina vacuolização em animais intoxicados por *Ipomoea pes caprae*, lesão histológica principal nos casos de intoxicação por *Ipomoea carnea* subs. *fistulosa* (BALOGH et al., 1999; ANTONIASSI et al., 2007; ARMIÉN et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2009; TOKARNIA et al., 2012), *Ipomoea riedelii*, (BARBOSA et al., 2006; BARBOSA et al., 2007), *Ipomoea sericophylla* e *Ipomoea verbascoidea* (BARBOSA et al., 2006; BARBOSA et al., 2007; MENDONÇA et al., 2011; MENDONÇA et al., 2012). Adicionalmente, nos animais intoxicados por *I. pes caprae* não foi observado armazenamento neuronal de oligossacarídeos em vacúolos através da avaliação lectinohistoquímica. Dessa forma, as alterações

degenerativas neuronais não podem ser associadas com o armazenamento de resíduos de açúcar.

No cerebelo dos animais intoxicados por *Ipomoea pes caprae*, em alguns campos avaliados, **neurônios de Purkinje necróticos, isolados**, foram observados, alguns desses com citoplasma vacuolizado, semelhante ao descrito em casos de intoxicação por *Ipomoea asarifolia* (GUEDES et al., 2007) e em micotoxicoses como intoxicação por *Claviceps paspali* (RIET-CORREA et al., 1983b) e *Neotyphodium lolii* (MUNDAY; MASON, 1967). Algumas **células de Golgi apresentaram alterações degenerativo-necróticas**, porém nenhum dos autores relata lesão específica nesse neurônio. É provável que as lesões em neurônios de Golgi sejam secundárias às que ocorreram nos neurônios de Purkinje.

Alterações astrocitárias incluindo alterações morfológicas (astrócitos vesiculares, com núcleos atípicos, cromatina margeada, limites celulares bem delimitados, aumentados) e astrogliose com proliferação de astrócitos vesiculares agrupados (3-7 unidades), muitas vezes no entorno de neurônios (satelitose) foram observadas em algumas porções do sistema nervoso nos animais intoxicados nesse surto. Esse achado, todavia, não é específico, pois uma das características mais notáveis dos astrócitos é a sua resposta vigorosa a diversos insultos neurológicos (EDDLESTON; MUCKE, 1993). Alterações astrocitárias podem ocorrer em várias doenças, como na polioencefalomalácia (PEM), que cursa com astrócitos hipertrofiados e ocasionalmente organizados em grupos de dois ou três com núcleos vesiculares e tumefeitos (SANT'ANA et al., 2009a) e na meningoencefalite (astrócitos tumefeitos) por BoHv-5 (SALVADOR et al., 1998; COLODEL et al., 2002c; ELIAS; SCHILD; RIET-CORREA, 2004; RIET-CORREA et al., 2006; RISSI et al., 2006). A intensidade e a rapidez da resposta astrogliosa em várias doenças indicam que os astrócitos reativos cumprem funções importantes para o SNC, embora essas funções não estejam completamente elucidadas (EDDLESTON; MUCKE, 1993).

A impregnação argêntica pelo método Bielschowsky é bastante utilizada para evidenciar processos neuronais, incluindo dendritos, axônios e neurofibrilas (MINBAY; KAHVECI; CAVUSOGLU, 2000). No bovino 3, essa coloração permitiu a visualização de esferoides axonais das células de Purkinje. A calbindina é uma proteína ligante de cálcio e é encontrada nas células de Purkinje, em todas as suas estruturas (núcleo, dendritos e axônio) (CELIO, 1990) e a sinaptofisina é uma proteína que compõe as vesículas pré-sinápticas (WIEDENMANN, FRANKE, 1985) e ambas as técnicas de imunohistoquímica permitiram a visualização da vacuolização das células de Purkinje, tanto em dendritos como no corpo celular, de um dos animais (bovino 3) intoxicados por *I. pes caprae*. Esses resultados

comprovam as lesões degenerativas das células de Purkinje dos animais intoxicados por *I. pes caprae*. O neurônio de Purkinje é considerado a "unidade funcional central" do córtex cerebelar, pois recebe de forma indireta ou direta estímulos aferentes e é o único responsável pelo estímulo eferente (MULLEN; EICHER; SIDMAN, 1976; BAUER-MOFFETT. ALTMAN, 1977); ele forma sinapses inibitórias com núcleos profundos do cerebelo e núcleos vestibulares (DAMIANI et al., 2016). Dessa forma, lesões nessa célula podem justificar os sinais descritos nos animais intoxicados por *I. pes caprae*, além disso, alterações de marcha já foram descritas em outras condições que cursam com lesões em células de Purkinje (MULLEN; EICHER; SIDMAN, 1976; THOMAS; GOODLETT; WEST, 1998).

Apesar da maior parte dos sintomas e lesões histológicas verificadas neste surto serem diversos dos que ocorrem na encefalopatia espongiforme bovina - na EEB também podem ocorrer tremores e ataxia (BRAUN; PUSTERLA; SCHICKER, 1998) e vacúolos da neurópila, entretanto as lesões no SNC são bilaterais e simétricas no tronco cerebral e os vacúolos ocorrem na neurópila da substância cinzenta do cérebro; processos neuronais exibem vacúolos intracelulares e massas de neurofilamentos e não há reação inflamatória (GODON; HONSTEAD, 1998), nos bovinos 1 e 2, verificou-se, em algumas áreas, leve vacuolização da neurópila. Devido a essas similaridades, os animais desse surto foram testados para EEB através de análise imunohistoquímica e não apresentaram reatividade. Embora no Brasil haja baixo risco de aparecimento de EEB, é imprescindível sempre que possível se descartar esse diagnóstico quando se trata de doenças neurológicas em bovinos (ANVISA, 2004).

Com a **avaliação ultraestrutural** foi possível identificar lise e degeneração hidrópica de organelas presentes tanto no corpo celular como nos dendritos das células de Purkinje nos animais desse surto. Isso comprova que a lesão que ocorre nessas células em animais intoxicados por *I. pes caprae* não tem relação com armazenamento de substância no interior das mesmas. Nas doenças do armazenamento os vacúolos observados na microscopia ótica são caracterizados, na avaliação ultraestrutural, como lisossomos dilatados, rodeados por uma única membrana, que estão vazios ou contêm fragmentos amorfos membranosos ou material finamente granuloso eletrolúcido (DRIEMEIER et al., 2000; SEITZ et al., 2005; BARBOSA et al., 2006; ARMIÉN et al., 2007; DANTAS et al., 2007; FURLAN et al., 2008; PEDROSO et al., 2010).

**Avaliação lectinohistoquímica** foi empregada, sobretudo, para descartar a possibilidade de armazenamento de oligossacarídeo estar envolvida na patogênese da intoxicação, como ocorre na intoxicação por outras espécies de *Ipomoea*, com exceção à *I. asarifolia*.

O estudo lectino-histoquímico demonstrou que 6 lectinas (Con-A, WGA, sWGA, PSA, LCA e PHA-E) marcaram, nos animais intoxicados por *Sida carpinifolia*, a borda e o interior de vacúolos intracitoplasmáticos de neurônios afetados (Purkinje e/ou Golgi). No caso avaliado, a lectina sWGA apresentou reação mais intensa e específica, da mesma forma Con-A e WGA foram específicas, porém marcaram mais levemente estas estruturas. As lectinas PSA e LCA, apesar de apresentarem marcação moderada, não foram tão específicas para os vacúolos das células de Purkinje. De forma similar ao descrito na literatura em doenças do armazenamento (TOKARNIA et al., 2012) provocadas pela intoxicação por *Ipomoea carnea* (ARMIÉN et al., 2007) e *Sida carpinifolia* (DRIEMEIER et al., 2000; COLODEL et al., 2002a; LORETTI et al., 2003a; PEDROSO et al., 2010).

Nos animais intoxicados por *I. pes caprae* e no bovino intoxicado por *I. asarifolia* (usado para comparação) a marcação de neurônios de Purkinje foi leve e, em grande parte, similar à observada no bovino sem lesão (animal sadio); 11 lectinas (exceto RCA, PNA e sWGA) acusaram marcação finamente granular no citoplasma de neurônios; a aparência e disposição dos grânulos marcados, muitas vezes se assemelhavam à substância de Nissl ou outros componentes estruturais dos neurônios.

De qualquer forma a diferença no padrão observado entre as lectinas nos animais avaliados (intoxicados por *I. pes caprae*, *I. asarifolia* e bovino sadio) por várias vezes foi muito sutil, além de por vezes apresentarem similaridade com a marcação do animal sem lesão, ou apenas discreta diferença de intensidade, de tal forma não foi possível estabelecer avanços acerca da patogênese com a utilização dessa técnica.

Embora todas as lectinas tenham interagido com prolongamentos celulares (camada molecular e/ou substância branca) as lectinas PNA (todos os animais) e RCA (no animal sem lesão, bovino 2, 3 e animal intoxicado por *I. asarifolia*) apresentaram marcação mais específica para essas estruturas, entretanto, a marcação era leve.

Com a lectina PHA-E foi observado ainda um padrão de marcação na membrana citoplasmática dos neurônios de Golgi nos bovinos 1 e 3 intoxicados por *I. pes caprae*. Esse padrão pode indicar aumento da atividade de secreção de neurotransmissores por estes neurônios; essas substâncias geralmente vão estar mais concentradas na superfície dessas células, em secreções e entre as células (associadas com moléculas de adesão) (BROOKS; LEATHEM; SCHUMACHER, 1997). As células de Golgi são importantes neurônios com função inibitória (WATANABE et al., 1998) e a marcação desses neurônios nos animais doentes pode indicar alguma alteração na sua funcionalidade. Alguns autores associam os tremores com alterações bioquímicas envolvendo neurotransmissores, como desregulação da



liberação dessas substâncias em casos de micotoxicoses (NORRIS et al., 1980; PETERSON; BRADFORD; MANTLE, 1982; VALDES; CAMERON; COLE, 1985).

As lectinas SBA (exceção bovino 3 e animal intoxicado por *Sida carpinifolia*) e GSL (exceção animal intoxicado por *Sida carpinifolia*) marcaram intensamente o endotélio da maior parte dos animais testados. Cabe ressaltar que esta marcação pode variar com a espécie animal testada e com o tempo de fixação (BROOKS; LEATHEM; SCHUMACHER, 1997).

Por se tratar de uma planta que têm por habitat as regiões arenosas, existe a possibilidade da ocorrência de surtos em outras áreas litorâneas do Brasil. Compreende-se que a intoxicação por *I. pes caprae* deve constar entre os diagnósticos diferenciais de síndromes nervosas em bovinos. Cabe ressaltar que outros agentes como *Paspalum* spp., infectado por *Claviceps paspali*, *Phalaris* spp., *Lolium multiflorum*, *Lolium perenne* e *Poa huecu*, *Cynodon dactylon* e *I. asarifolia*, não foram observados na propriedade e também não foram descritos como causa de intoxicação na região norte fluminense.

Sabe-se da dificuldade encontrada por veterinários de campo em se fazer o diagnóstico diferencial dentre as enfermidades do sistema nervoso em animais de produção, seja pela similaridade de achados clínicos ou ainda pela dificuldade de colher e remeter adequadamente o material coletado ao laboratório (RIET-CORREA; RIET-CORREA; SCHILD, 2002; RISSI et al., 2010). Entretanto, uma pesquisa minuciosa sobre os dados epidemiológicos e clínicos seguidos pela identificação da síndrome tremorgênica e a identificação morfológica *I. pes caprae* remetem a um grupo menor de agentes etiológicos, de modo a aumentar as chances de êxito quanto ao diagnóstico conclusivo.

As lesões histológicas sutis e sem evidência de armazenamento (confirmada pela técnica lectinohistoquímica) indicam que a patogênese pode envolver perturbações na neurotransmissão por interferência nos seus mecanismos bioquímicos, semelhante ao sugerido em casos de intoxicação por *Ipomoea asarifolia*, planta que também causa síndrome tremorgênica (BARBOSA et al., 2005).

## 6 CONCLUSÕES

- *Ipomoea pes caprae*, ao contrário do que se pensava, é tóxica para bovinos.
- *Ipomoea pes caprae* causa síndrome tremorgênica e não doença do armazenamento lisossomal.
- *Ipomoea pes caprae* provoca leves alterações degenerativas e necróticas em neurônios e proliferação astrocitária.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHA, P.N.; SZYFRES, B. Virosis. In: Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 2003. 398p. (Organización Panamericana de la Salud. Comunicado técnico, 580, 3ª ed., volume II, parte II, p. 351 – 383).
- ALVIN-CARNEIRO, P. Envenenamento por *Equisetum* sp (Cavalinha). Ceres, v.8, n.43, p.32-36, 1948.
- ANTONIASSI, N.A.B.; FERREIRA, E.V.; SANTOS, C.E.P.; CAMPOS, J.L.E.; NAKAZATO, L.; COLODEL, E.M. Intoxicação espontânea por *Ipomoea carnea* subsp. *fiatulosa* (Convolvulaceae) em bovinos no Pantanal Matogrossense. Pesq. Vet. Bras., v. 27, n. 10, p. 415-418, 2007.
- ANVISA. Encefalopatia Espongiforme Transmissível. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), 2004. 118p. (Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Caderno Técnico, 1ª ed., 2004).
- ARAÚJO, J.A.S.; RIET-CORREA, F.; BARROS, S.S.; VASCONCELOS, J.S.; OLIVEIRA, D.M.; BARBOSA, R.C.; MEDEIROS, R.M.T. Intoxicação por *Ipomoea asarifolia* em ovinos. Pesq. Vet. Bras., n. 24, v. supl., p. 6-7, 2004.
- ARMIÉN, A.G.; TOKARNIA, C.H.; PEIXOTO, P.V.; FRESE, K. Spontaneous and Experimental Glycoprotein Storage Disease of Goats Induced by *Ipomoea carnea* subsp *fiatulosa* (Convolvulaceae). Vet. Pathol., v. 44, p. 170-184, 2007.
- ALROY, J.; UCCI, A.A.; GOYAL, V.; WOODS, W. Lectin Histochemistry of Glycolipid Storage Diseases on Frozen and Paraffin-Embedded Tissue Sections. J. Histochem. Cytochem., v.34, n.4, p.501-505, 1986.
- ASSIS, T.S.; MEDEIROS, R.M.T.; RIET-CORREA, F.; GALIZA, G.J.N.; DANTAS, A.F.M.; OLIVEIRA, D.M. Intoxicações por plantas diagnosticadas em ruminantes e equinos e estimativa das perdas econômicas na Paraíba. Pesq. Vet. Bras., v. 30, n.1, p. 13-20, 2010.
- AZAMBUJA, R. O.; QUEIROZ, G.R.; RIBEIRO, R.C.L.; PEREIRA, P.F.V.; ROMÃO, F.T.N.M.A.; FLAIBAN, K.K.M.C.; BALARIN, M.R.S.; NETTO, D.P.; DI SANTIS, G.W.; REIS, A.C.F.; BRACARENSE, A.P.F.R.L.; ALFIERI, A.A.; LISBÔA, J.A.N. Prevalência das doenças neurológicas em bovinos no Estado do Paraná. Rev. Educ. Cont. Vet. Med. Zootec., v. 9, n. 3, p. 68-68, 2011.
- BALOGH, K.K.I.M.; DIMANDE, A.P.; LUGT, J.J.; MOLYNEUX, R.J.; NAUDÉ, T.W.; WELMAN, W.G.M. Lissosomal storage disease induced by *Ipomoea carnea* in goats in Mozambique. J. Vet. Diagn. Invest., v. 11, p. 266-273, 1999.
- BARBOSA, J.D.; OLIVEIRA, C.M.C.; DUARTE, M.M.; PEIXOTO, P.V.; TOKARNIA, C.H. Intoxicações experimental e natural por *Ipomoea asarifolia* (Convolvulaceae) em búfalos e outros ruminantes. Pesq. Vet. Bras., v. 25, n. 4, p. 231-234, 2005.

BARBOSA, R.C.; RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R.M.T.; LIMA, E.F.; BARROS, S.S.; GIMENO, E.J.; MOLYNEUX, R.J.; GARDNER, D.R. Intoxication by *Ipomoea sericophylla* and *Ipomoea riedelii* in goats in the state of Paraíba, Northeastern Brasil. *Toxicon*, v. 47, p. 371-379, 2006.

BARBOSA, R.C.; RIET-CORREA, F.; LIMA, E.F.; MEDEIROS, R.M.T.; GUEDES, K.M.R.; GARDNER, D.R.; MOLYNEUX, R.J.; MELO, L.E.H. Experimental swainsonine poisoning in goats ingesting *Ipomoea sericophylla* and *Ipomoea riedelii* (Convolvulaceae). *Pesq. Vet. Bras.*, v. 27, n. 10, p. 409-414, 2007.

BARBOSA, J.D.; TOKARNIA, C.H.; ALBERNAZ, T.T.; OLIVEIRA, C.M.C.; SILVA, N.S.; SILVEIRA, J.A.S.; REIS, A.S.B.; LIMA, D.H.S. Intoxicação natural por *Ipomoea asarifolia* (Convolvulaceae) em búfalos na Ilha de Marajó, Pará. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 32, n. 9, p. 869-871, 2012.

BARNI, S.T.; FILHO, V.C.; COUTO, A.G. Caracterização química e tecnológica das folhas, caules e planta inteira da *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br., Convolvulaceae, como matéria prima farmacêutica. *Rev. Bras. Farmacogn.*, v. 19, n. 4, p. 865-870, 2009.

BARROS, C.S.L.; LEMOS, R.A.A. Encefalopatia Espongiforme Bovina (BSE). In: LEMOS, R.A.A. (Ed.). *Principais Enfermidades de Bovinos de Corte do Mato Grosso do Sul: reconhecimento e diagnóstico*. Mato Grosso do Sul: UFMS, 1998. p.169.

BARROS, S.S.; RIET-CORREA, F.; ANDUJAR, M.B.; BARROS, C.S.L.; MÉNDEZ, M.C.; SCHILD, A.L. *Solanum fastigiatum* and *Solanum* sp poisoning in cattle: Ultrastructural changes in the cerebellum. *Pesq. Vet. Bras.*, v.7, p. 1-5, 1987.

BAUER-MOFFETT, C.; ALTMAN, J. The effect of ethanol chronically administered to preweanling rats on cerebellar development: a morphological study. *Brain Res.*, v. 119, p. 249-268, 1977.

BEKE, G.J.; HIRONAKA, R. Toxicity to beef cattle of sulfur in saline well water: a case study. *Sci. total environ.*, v.101, p. 281-290, 1991.

BEZERRA, M.J.G.; BRITO, M.F. Intoxicação experimental pelas folhas de *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) em ovinos e caprinos. *Pesq. Vet. Bras.*, v.15, n.1, p. 27-34, 1995.

BEZERRA, P.S.; RAYMUNDO, D.L.; SPANAMBERG, A.; CORRÊA, A.M.R.; BAGEL JÚNIOR, J.J.; FERREIRO, L.; DRIEMEIER D. Neurotoxicose em bovinos associada ao consumo de bagaço de malte contaminado por *Aspergillus clavatus*. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 29, n.3, p.220-228, 2009a.

BEZERRA JÚNIOR, P.S.; SANTOS, A.S.; BANDARRA, P.M.; PEDROSO, P.M.O.C.; PAVARINI, S.P.; SPANANBERG, A.; FERREIRO, L.; DRIEMEIER, D. Intoxicação experimental por *Aspergillus clavatus* em ovinos. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 29, n. 3, p. 205-210, 2009b.

BRASIL. Controle da raiva dos herbívoros: manual técnico 2009. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa/ACS), 2009. 124p. (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária. Manual técnico, 2009).

BRASIL, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Produção Da Pecuária Municipal, v. 40, p.1-71, 2012.

BRAUN, U.; PUSTERLA, N.; SCHICKER, E. Bovine spongiform encephalopathy: Diagnostic approach and clinical findings. *Compendium's Food Animal Medicine & Management*, v.20, n.10, p. s270-s278, 1998.

BROOKS, S.A.; LEATHEM, A.J.C.; SCHUMACHER, U (Eds.). *Lectin Histochemistry*. Oxford: Bios Scientific Publishers, 1997. 177 p.

BRUST, L.A.C.; ARAGÃO, A.P.; BEZERRA, P.S.; GALVÃO, A.; FRANÇA, T.N.; GRAÇA, F.A.S.; PEIXOTO, P.V. Enfermidades em bovinos associadas ao consumo de resíduos de cervejaria. *Pesq. Vet. Bras.*, v.35, n.12, p.956-964, 2015.

BUSAM, L. U<sup>ber</sup> die Gifte aus *Baccharis coridifolia* und *Polygala klotzschii*. 1985. 257p. Dissertação - Universidade de Hannover, 1985.

CÂMARA, A.C.L.; COSTA, N.A.; RIET-CORREA, F.; AFONSO, J.A.B.; DANTAS, A.F.M.; MENDONÇA, C.L.; SOUZA, M.I. Intoxicação espontânea por vagens de *Prosopis juliflora* (Leg. Mimosoideae) em bovinos no Estado de Pernambuco. *Pesq. Vet. Bras.*, n. 29, v. 3, p. 233-240, 2009.

CAMARGO, W.V.A.; MENGATO, W.P.; MORITA, T. Intoxicação de bovinos pela *Polygala klotzschii* Chodat, na região do Pontal (estado de São Paulo). *Biológico*, v.34, n.10, p.221-223, 1968.

CANTILE, C.; YOUSSEF, S. Nervous System. In: MAXIE, M.G. (Ed.). *Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals*. 6<sup>th</sup> ed. Missouri: Elsevier, 2016. vol. 1, cap. 4, p. 250-406.

CASAGRANDE, R.A.; MAZZOCCO, M.B.; FRIZON, R.; LENTZ, D.; TRAVERSO, S.D.; GAVA, A. Doenças de bovinos diagnosticadas pelo Laboratório de Patologia Animal CAV/UEDESC de janeiro de 2000 a abril de 2008. In: ENCONTRO NACIONAL DO DIAGNÓSTICO VETERINÁRIO, 3, 2008, Mato Grosso do Sul. Anais 3<sup>o</sup> Endivet, Campo Grande: Editora Oeste, 2008. p.55-56.

CARDOSO, T.C.; EMMERICH, T.; WICPOLT, N.S.; OGLIARI, D.; TRAVERSO, S.D.; GAVA, A. Intoxicação experimental pelos frutos de uva-Japão, *Hovenia dulcis* (Rhamnaceae), em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* v.35, n.2, p.115-118, 2015.

CARVALHO, P.E.R. Ecologia, silvicultura e usos da Uva-do-Japão (*Hovenia dulcis* Thunberg). Colombo: Embrapa Florestas Paraná, 1994. 24p. (Embrapa Florestas Paraná. Comunicado Técnico, 23)

CEBRA, C.K.; CEBRA, M.L. Altered mentation caused by polioencephalomalacia, hypernatremia, and lead poisoning. *Vet. Clin. Food Anim.*, v. 20, p. 287–302, 2004.

CELIO, M.R. Calbindin d-28k and parvalbumin in the rat nervous system. *Neuroscience*, v. 35, n. 2, p. 375-475, 1990.

COLODEL, E.M.; LORETTI, A.P.; CRUZ, F.C.E.; DRIEMEIER, D. Polioencefalomalacia em caprinos associada à ingestão dos frutos de *Hovenia dulcis* (uva-do- -Japão). Bolm. 25 do Laboratório Regional de Diagnóstico, Pelotas, p.35-42, 1998.

COLODEL, E.M.; DRIEMEIER, D.; LORETTI, A.P.; GIMENO, E.J.; TRAVERSO, S.D.; SEITZ, A.L.; ZLOTOWSKI, P. Aspectos clínicos e patológicos da intoxicação por *Sida carpinifolia* (Malvaceae) em caprinos no Rio Grande do Sul. Pesq. Vet. Bras., v. 22, n. 2, p. 51-57, 2002a.

COLODEL, E.M.; GARDNER, D.R.; ZLOTOWSKI, P.; DRIEMEIER, D. Identification of swainsonine as a glycoside inhibitor responsible for *Sida carpinifolia* poisoning. Vet. Hum. Toxicol., v. 44, n. 3, p. 177-178, 2002b.

COLODEL, E.M.; NAKAZATO, L.; WEIBLEN, R.; MELLO, R.M.; DA SILVA, R.R.P.; SOUZA, M.A.; FILHO, J.A.O.; CARON, L. Meningoencefalite necrosante em bovinos causada por herpesvírus bovino no estado de Mato Grosso, Brasil. Cienc. Rural, v.32, n.2, p.293-298, 2002c.

COLODEL, E.M.; SCHMITZ, M.; TRAVERSO, S.D.; SANCHES, E.M.C.; FERREIRO, F.; LORETTI, A.P.; CORREA, A.M.C.; SEITZ, A.L.; DRIEMEIER, D. Aspectos clínicos e patológicos da doença neurológica de bovinos reproduzida pela administração de milho contaminado com *Aspergillus clavatus*. Pesq. Vet. Bras, v. 24, (Supl.), p. 16-17, 2004.

CUMMINGS, B.A.; CALDWELL, D.R.; GOULD, D.H.; HAMAR, D.W. Identity and interactions of rumen microbes associated with dietary sulfate-induced polioencephalomalacia in cattle. Am. J. Vet. Res., v.56, n.10, p.1384-1389, 1995.

DAMIANI, D.; GONÇALVES, V.P.; KUHLE, L.; ALOI, P.H.; NASCIMENTO, A.M. Aspectos neurofuncionais do cerebelo: o fim de um dogma. Arq. Bras. Neurocir., v. 35, p. 39-44, 2016.

DANTAS, A.F.M.; RIET-CORREA, F.; GARDNER, D.R.; MEDEIROS, R.M.T.; BARROS, S.S.; ANJOS, B.L.; LUCENA, R.B. Swainsonine-induced lysosomal storage disease in goats caused by the ingestion of *Turbina cordata* in Northeastern Brazil. Toxicon, v. 49, p.111-116, 2007.

DAVID, N.; HÜBNER, S.O.; RIET-CORREA, F.; HALFEN, D.; LEMOS, R.A. Reactivation of latent bovine herpesvirus type 5 in cattle with polioencephalomalacia induced by ammonium sulphate. Pesq. Vet. Bras., v.27, n.10, p.435-441, 2007.

DEMAIN, A.L.; HUNT, N.A.; MALIK, V.; KOBBE, B.; HAWKINS, H.; MATSUO, K.; WOGAN, G.N. Improved Procedure for Production of Cytochalasin E and Tremorgenic Mycotoxins by *Aspergillus clavatus*. Appl. Environ. Microbiol., v.31, n.1, p.138-140, 1976.

DEUSCHL, G.; BAIN, P.; BRIN, M. Consensus Statement of the Movement Disorder Society on Tremor. Mov. Disord., v. 13, sup. 3, p. 2-23, 1998.

DEUSCHL, G.; PAPENGUT, F.; HELLRIEGEL, H. The phenomenology of Parkinsonian tremor. Parkinsonism Relat. Disord., v. 18S1, p. S87-S89, 2012.

- DINIZ, J.M.F.; BASILE, J.R. Intoxicação natural de asininos por *Pteridium aquilinum*(L.)Kuhn no Brasil. Arq. Bras. Med. Vet. Zoot., v. 36, n.5, p.515-522, 1984.
- DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. Rosenberger: exame clínico dos bovinos. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 419p.
- DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C.H; CANELLA, C.F.C. Intoxicação experimental pela “salsa” (*Ipomoea asarifolia* R. et Schult.) em ruminantes. Arqs Inst. Biol. Animal, v. 3, p. 39-57, 1960.
- DÖBEREINER J.; TOKARNIA, C.H.; CANELLA, C.F.C. Experimental poisoning of cattle by the pericarp of the fruit of *Ricinus communis*. Pesq. Vet. Bras., v.1, n.3, p. 95-97, 1981.
- DRIEMEIER, D.; COLODEL, E.M.; GIMENO, E.J.; BARROS, S.S. Lysosomal Storage Disease caused by *Sida carpinifolia* poisoning in goats. Vet. Patol., v. 37, p. 153-159, 2000.
- DUTRA, I.S.; WEISS, H. E; WEISS, H.; DÖBEREINER, J. Diagnóstico de botulismo em bovinos no Brasil pela técnica de microfização de complemento. Pesq. Vet. Bras., v.13, n. 3/4, p. 83-86, 1993.
- DUTRA, I.S.; DÖBEREINER, J.; ROSA, I.V.; SOUZA, L.A.A.; NONATO, M. Surtos de botulismo em bovinos no Brasil associados à ingestão de água contaminada. Pesq. Vet. Bras., v. 21, n.2, p. 43-48, 2001
- DUTRA, I.S.; DÖBEREINER, J.; SOUZA, A.M. Botulismo em bovinos de corte e leite alimentados com cama de frango. Pesq. Vet. Bras., v. 25, n. 2, p. 115-119, 2005.
- EDDLESTON, M.; MUCKE, L. Molecular profile of reactive astrocytes- implications for their rule in neurologic disease. Neuroscience, v. 54, n. 1, p. 15-36, 1993.
- ELIAS, F.; SCHILD, A.L.; RIET-CORREA, F. Meningoencefalite e encefalomalacia por Herpesvírus bovino-5: distribuição das lesões no sistema nervoso central de bovinos naturalmente infectados. Pesq. Vet. Bras., v.24, n.3, 2004.
- EMENDORFER, F.; BELLATO, F.; NOLDIN, V.F.; NIERO, R.; CECHINEL-FILHO, V.; CARDOZA, A.M. Evaluation of the relaxant action of some Brazilian medicinal plants in isolated guinea-pig ileum and rat duodenum. J. Pharm. Pharm. Sci., v. 8, p. 63-68, 2005.
- FARAH, M. O.; HASSAN, A. B.; HASHIM, M. M.; ATTA, A. H. Phytochemical and pharmacological studies on the leaves of *Ricinus communis* L. Egypt. J. Vet. Sci., v. 24, p. 169–180, 1988.
- FERRAZ, A. C.; ANGELUCCI, M. E.; DA COSTA, M. L.; BATISTA, I. R.; OLIVEIRA, B. H.; DA CUNHA, C. Pharmacological evaluation of ricinine, a central nervous system stimulant isolated from *Ricinus communis*. Pharmacol. Biochem. Behav., v.63, p. 367–375, 1999.
- FERRAZ, A.C; PEREIRA, L.F.; RIBEIRO, R.L.; WOLFMAN, C.; MEDINA, J.H.; SCORZA, F.A.; SANTOS, N.F.; CAVALHEIRO, E.A.; DA CUNHA, C. Ricinine-elicited seizures: a novel chemical model of convulsive seizures. Pharmacol, Biochem Behav., v. 65, p.577-583, 2000.

FERRAZ, A.C.; ANSELMO-FRANCI, J.A.; PEROSA, S.R.; CASTRO-NETO, E.F.; BELLISSIMO, M.I.; OLIVEIRA, B.H.; CAVALHEIRO, E.A.; NAFFAH-MAZZACORATTI, M.G.; CUNHA, C. Amino acid and monoamine alterations in the cerebral cortex and hippocampus of mice submitted to ricinine-induced seizures. *Pharmacol, Biochem. Behav.*, v.72, p. 779–786, 2002.

FERNANDES, W.R.; GARCIA, R.C.M.; MEDEIROS, R.M.A.; BIRGEL, E.H. Intoxicação experimental por *Pteridium aquilinum*. *Arq. Esc. Med. Vet. UFBA*, v.13, n.1, p. 112-124, 1990.

FERNANDES, C.G. Doenças víricas- Raiva. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MENDEZ, M.D.X.; LEMOS, R.A.A. (Eds.). *Doenças de Ruminantes e Equinos*. 2ª ed. São Paulo:Varela, 2001. vol. 1, cap. 2, p. 149-162.

FIGUEIREDO, L.J.C.; FERREIRA, M.M.; TÁVORA, J.P.F.; SIMÕES, S.V.D.; DANTAS, J.R. Estudo clínico e anatomopatológico da doença “Cara Torta” em bovinos do nordeste brasileiro. *Arq. Esc. Med. Vet. UFBA*, v. 18, p. 175–183, 1996

FURLAN, F.H.; LUCIOLI, J.; VERONEZI, L.O.; TRAVERSO, S.D.; GAVA, A. Intoxicação experimental por *Sida carpinifolia* (Malvaceae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 28, n. 1, p. 57-62, 2008.

GAVA, A.; SOUSA, R.S.; DE DEUS, M.S.; PILATI, C.; CRISTANI, J.; MORI, A.; NEVES, D.S. *Phalaris angusta* (Gramineae) como causa de enfermidade neurológica em bovinos no Estado de Santa Catarina. *Pesq. Vet. Bras.*, v.1, n. 1, p. 35-38, 1999.

GAVA, A. Doenças tóxicas- Intoxicação por chumbo. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MENDEZ, M.D.X.; LEMOS, R.A.A. (Eds). *Doenças de Ruminantes e Equinos*. 2ª ed. São Paulo:Varela, 2001. vol. 2, cap. 2, p. 193-196.

GAVA, A.; BALBINOTTI, V.; NEVE, D.S.; ROCHA, T.S.; MAZAROBA, S.; GAVA D. Intoxicação por *Hovenia dulcis* (uva-do-Japão) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 24(Supl.), p.25-26, 2004.

GALIZA, G.J.N.; SILVA, M.L.C.R.; DANTAS, A.F.M.; SIMÕES, S.V.D.; RIET-CORREA, F. Doenças do sistema nervoso de bovinos no semiárido nordestino. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 30, n. 3, p. 267-276, 2010.

GODON, K.A.H.; HONSTEAD, J. Transmissible Spongiform Encephalopathies in Food Animals: Human Food Safety and Animal Feed Safety Concerns for Veterinarians. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v.14, n.1, p. 49-70, 1998.

GOONERATNE, S.R.; OLKOWSKI, A.A.; KLEMMER, R.G.; KESSLER G.A.; CHRISTENSEN, D.A. High sulfur related thiamine deficiency in cattle: a field study. *Can. Vet. J.*, v. 30, p.139-146, 1989.

GOULD, D.H. Polioencephalomalacia. *J. Anim. Sci.*, v.76, p. 309–314, 1998.

GOULD, D.H. Update on sulfur-related polioencephalomalacia. *Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract.*, v.16, p.481-496, 2000.



GOLDSTEIN, G.W.; ASBURY, A.K.; DIAMOND, I. Pathogenesis of Lead Encephalopathy-Uptake of Lead and Reaction of Brain Capillaries. Arch. Neurol., v. 31, 1974.

GUARANÁ, E.L.S.; RIET-CORREA, F.; MENDONÇA, C.L.; MEDEIROS, R.M.T.; COSTA, N.A.; AFONSO, J.A.B. Intoxicação por *Solanum paniculatum* (Solanaceae) em bovinos. Pesq. Vet. Bras., v. 31, n.1, p. 59-64, 2011.

GUEDES, K.M.R.; RIET-CORREA, F.; DANTAS, A.F.M.; SIMÕES, S.V.D.; NETO, E.G.M.; NOBRE, V.M.T.; MEDEIROS, R.M.T. Doenças do sistema nervoso central em caprinos e ovinos no semi-árido. Pesq. Vet. Bras., v. 27, n.1, p. 29-38, 2007.

HARAGUCHI, M.; GORNIK, S.L.; IKEDA, K.; MINAMI, Y.; KATO, A.; WATSON, A.A.; NASH, R.J.; MOLYNEUX, R.J.; ASANO, N. Alkaloidal Components in the Poisonous Plant, *Ipomoea carnea* (Convolvulaceae). J. Agric. Food Chem., v. 51, p.4995-5000, 2003.

HAUKE, C.; KORR, H. RCA-I lectin histochemistry after trypsinisation enables the identification of microglial cells in thin paraffin sections of the mouse brain. Neurosci. Methods., v.50, n.3, p.273-277, 1993.

JAMES, L.F. Solving poisonous plant problems by a team approach. In: COLEGATE, S.M.; DORLING, P.R. (Eds.). Plant Associated Toxins. Wallingford: CAB International, 1994. p. 1-6.

JÚNIOR, C.A.O.; RIET-CORREA, G.; RIET-CORREA, F. Intoxicação por plantas que contêm swainsonina no Brasil. Cienc. Rural, v. 43, n.4, p. 653-661, 2013.

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. Pesq. Vet. Bras., v. 24, n.4, p. 191-198, 2004.

KHAN, M.M.; AHMAD, F.; RASTOGI, A.K.; KIDWAI, J.R. Insulinogenic and hypoglycemic activities of *Ipomoea pes-caprae*. Fitoterapia, v. 65, p. 231-234, 1994.

KREBS, H.C.; SOLLINGER, P. Triterpene Glycosides from *Polygala Klotzschii*. Z. Naturforsch.,v. 51 b, p.897-900, 1996.

KROGH, R.; KROTH, R.; BERTI, C.; MADEIRA, A.O.; SOUZA, M.M.; CECHINEL-FILHO, V.; DELLE-MONACHE, F.; YUNES, R.A. Isolation and identification of compounds with antinociceptive action from *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. Die Pharmazie, v. 54, p. 464-466, 1999.

LEMOS, R.A.A.; NAKAZATO, L. Polioencefalomalacia. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MENDEZ, M.D.X.; LEMOS, R.A.A. (Eds.). Doenças de Ruminantes e Equinos. 2ª ed. São Paulo:Varela, 2001. vol. 2, cap. 7, p. 547-553.

LEMOS, R.A.A. Enfermidades do sistema nervoso de bovinos de corte das regiões Centro-oeste e Sudeste do Brasil. 2005. 149p. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2005.

LEWIS, P.R.; DONOGHUE, M.B.; COOK, L.; GRANGER, L.V.; HOCKING, A.D. Tremor syndrome associated with a fungal toxin: sequelae of food contamination. *Med. J. Aust.*, v. 182, n. 11, p. 582-584, 2005.

LISBÔA, J.A.N.; KUCHEMUCK, M.R.G.; DUTRA, I.S.; GONÇALVES, R.C.; ALMEIDA, C.T.; FILHO, I.R.B. Epidemiologia e quadro clínico do botulismo epizootico dos bovinos no estado de São Paulo. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 16, n. 2/3, p. 67-74, 1996.

LOPES, J.R.G.; RIET-CORREA, F.; COOK, D; PFISTER, J.A.; MEDEIROS, R.M.T. Elimination of the tremorgenic toxin of *Ipomoea asarifolia* by milk. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 34, n.11, p. 1085-1088, 2014.

LORENZI, H (Ed.). Plantas Daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais. 3ª ed. São Paulo: Plantarum, 2000. 608p.

LORETTI, A.P.; COLODEL, E.M.; GIMENO, E.J.; DRIEMEIER, D. Lysosomal storage disease in *Sida carpinifolia* toxicosis: an induced mannosidosis in horses. *Equine vet. J.*, v. 35, n. 5, p. 434-438, 2003a.

LORETTI, A.P.; COLODEL, E.M.; DRIEMEIER, D.; CORRÊA, A.M.; BANGEL, J.J.; FERREIRO, L. Neurological disorder in dairy cattle associated with consumption of beer residues contaminated with *Aspergillus clavatus*. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v. 15, p.123–132, 2003b.

LUCENA, R.B.; RISSI, D.R.; MAIA, L.A.; FLORES, M.M.; DANTAS, A.F.M.; NOBRE, V.M.T.; RIET-CORREA, F.; BARROS, C.S.L. Intoxicação por alcaloides pirrolizidínicos em ruminantes e equinos no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* v.30, n.5, p. 447-452, 2010.

MANIGAUHA, A.; KHARYA, M.D.; GANESH, N. In vivo antitumor potential of *Ipomoea pes-caprae* on melanoma cancer. *Pharmacogn. Mag.*, v. 11, n.42, p.426, 433, 2015.

McKENZIE, R.A.; KELLY, M.A.; SHIVAS, R.G.; GIBSON, J.A.; COOK, P.J.; WIDDERICK, K.; GUILFOYLE, A.F. *Aspergillus clavatus* tremorgenic neurotoxicosis in cattlefed sprouted grains. *Aust. Vet. J.*, v. 82, n. 10, 2004.

MEDEIROS, R.M.T.; BARBOSA, R.C.; RIET-CORREA, F.; LIMA, E.F.; TABOSA, I.M.; BARROS, S.S.; GARDNER, D.R.; MOLYNEUX, R.J. Tremorgenic syndrome in goats caused by *Ipomoea asarifolia* in Northeast Brazil. *Toxicon*, v. 41, p. 933-935, 2003.

MEDEIROS, R.M.T.; GUILHERME, R.F.; RIET-CORREA, F.; BARBOSA, R.C.; LIMA E.F. Experimental poisoning by *Solanum paniculatum* (jurubeba) in cattle. *Pesq. Vet. Bras.*, v.24 (Supl.), n.41, 2004.

MELLO, G.W.S.; LIVEIRA, D.M.; CARVALHO, C.J.S.; PIRES, L.V.; COSTA, F.A.L.; RIET-CORREA, F.; SILVA, S.M.M. Plantas tóxicas para ruminantes e eqüídeos no Norte Piauiense. *Pesq. Vet. Bras.*, n. 30, v.1, p. 1-9, 2010.

MELO, L.M.; BARBOSA, E.R.; CARAMELLI, P. Declínio cognitivo e demência associados à doença de Parkinson: características clínicas e tratamento. *Rev. Psiq. Clín.*, v.34, n. 4, p.176-183, 2007.

MÉNDEZ, M.C.; RIET-CORREA, F. Intoxicações por plantas e micotoxinas- Plantas hepatotóxicas - plantas que causam fibrose hepática . In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MENDEZ, M.D.X.; LEMOS, R.A.A. (Eds.). Doenças de Ruminantes e Equinos. 2ª ed. São Paulo: Varela, 2001. vol. 2, cap. 3, p. 223-227.

MENDONÇA, F.S.; EVÊNCIO-NETO, J.; ESTEVÃO, L.R.M.; MELO, L.E.H.; FREITAS, S.H.; ARRUDA, L.P.; BOABAID, F.M.; COLODEL, E.M. Aspectos clínicos da intoxicação experimental pelas favas de *Stryphnodendron fissuratum* (Leg. Mimosoideae) em caprinos. Pesq. Vet. Bras., v. 30, n.3, p. 203-210, 2010.

MENDONÇA, F.S.; EVÊNCIO-NETO, J.; ALBUQUERQUE, R.F.; DRIEMEIER, D.; CAMARGO, L.M.; DÓRIA, R.G.S.; BOABAID, F.M.; CALDEIRA, F.H.B.; COLODEL, E.M. Spontaneous poisoning of goats by the plant *Ipomoea sericophylla* (Convolvulaceae) in Brazil - a case report. Acta Veterinaria Brno, v.80, p.235-239, 2011

MENDONÇA, F.S.; ALBUQUERQUE, R.F.; EVÊNCIO-NETO, J.; FREITAS, S.H.; DÓRIA, R.G.S.; BOABAID, F.M.; DRIEMEIER, D.; GARDNER, D.R.; RIET-CORREA, F.; COLODEL, E.M. Alpha-mannosidosis in goats caused by the swainsonine-containing plant *Ipomoea verbascoidea*. J. Vet. Diagn. Invest., v. 24, n.1, p. 90-95, 2012.

MINBAY, F.Z.; KAHVECI, Z.; CAVUSOGLU, I. Rapid Bielschowsky silver impregnation method using microwave heating. Biotech. Histochem., v. 76, n. 5&6, p. 234-238, 2001.

MIYAZAKI, S.; FUKUMURA, M.; YOSHIOKA, M.; YAMANAKA, N. Detection of endophyte toxins in the imported ryegrass straw. J. Vet. Med. Sci., v. 63, n.9, p. 1013-1015, 2001.

MIYAZAKI, S.; IKEDA, T.; HANAZUMI, M.; FUKUMOTO, Y.; YAMATA, T.; MIKAMI, O.; YAMANAKA, N.; MURATA, H.; SHIMADA, N.; ISHIKURO, E. Toxicological evaluation of endophyte-infected perennial ryegrass straw to Japanese Black steers. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FUNGAL ENDOPHYTES OF GRASSES, 6, 2007, Christchurch. Proceedings of the 6th international symposium on fungal endophytes of grasses, New Zeland: New Zealand Grassland Association, 2007. p.415-418.

MOLYNEAUX, R.J.; MCKENZIE, R.A.; O'SULLIVAN, B.M.; ELBEIN, A.D. Identification of the glycosidase inhibitors swainsonine and Calystegine B2 in weir vine (*Ipomoea* sp) and correlation with toxicity. J. Nat. Prod., v. 58, n. 6, p. 878-886, 1995.

MOORE, J.R.; PRATLEY, J.E.; MACE, W.J.; WESTON, L.A. Variation in Alkaloid Production from Genetically Diverse *Lolium* Accessions Infected with *Epichloë* Species. J. Agric. Food Chem., v. 63, p. 10355–10365, 2015.

MOREIRA, H.J.C.; BRAGANÇA, H.B.N. Manual de identificação de plantas infestantes: hortifrúti. São Paulo: FCM Agricultural Products, 1017p., 2011. Disponível em: < [https://www.fmcagricola.com.br/portal/manuais/infestantes\\_hf/files/assets/downloads/publication.pdf](https://www.fmcagricola.com.br/portal/manuais/infestantes_hf/files/assets/downloads/publication.pdf) >. Acesso em: 7 fev. 2018.

MULLEN, R.J.; EICHER, E.M.; SIDMAN, R.L. Purkinje cell degeneration, a new neurological mutation in the mouse. Proc. Nat. Acad. Sci., v. 73, n. 1, p. 208-212, 1976.

MUNDAY, B.L.; MASON, R.W. Lesions in ryegrass staggers in sheep. Aust. Vet. J., v.43, p. 598-599, 1967.

MURNAME, R. D.; AHERN-RINDELL, A. J.; PRIEUER, D.J. Lectin histochemistry of an ovine lysosomal storage disease with deficiencies of beta-galactosidase and alpha-neuraminidase. Am. J. Pathol., v.135, n.4, p.623-630, 1989.

NETO, S.A.G.; LIMA, J.M.; CÂMARA, A.C.L.; GADELHA, I.C.N.; OLINDA, R.G.; BATISTA, J.S.; SOTO-BLANCO, B. Spontaneous and experimental poisoning by *Marsdenia megalantha* Goyder & Morillo in ruminants and a pig. Toxicon, v. 63, p. 116-119, 2013.

NORRIS, P.J.; SMITH, C.C.T.; BELLEROCHE, J.D.; BRADFORD, H.F.; MANTLE, P.G.; THOMAS, A.J.; PENNY, R.H.C. Actions of Tremorogenic Fungal Toxins on Neurotransmitter Release. J. Neurochem., v.34, n.1, p.33-42, 1980.

ODRIOZOLA, E.; LOPEZ, T.; CAMPERO, C.; GIMENEZ PLACERES, C. Ryegrass staggers in heifers: a new mycotoxicosis in Argentina. Vet, Hum Toxicol., v. 35, p. 144-146, 1993.

ODRIOZOLA, E.; BRETSCHEIDER, G.; PAGALDAY, M.; ODRIOZOLA, H.; QUIROZ, J.; FERREIRA, J. Intoxicación natural con *Cynodon dactylon* (pata de perdiz) em un rodeo de cria. Vet Argentina, v.15, n.148, p. 579-583, 2001.

OLIVEIRA, C.A.; BARBOSA, J.D.; DUARTE, M.D.; CERQUEIRA, V.D.; RIET-CORREA, F.; TORTELLI, F.P.; RIET-CORREA, G. Intoxicação por *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* (Convolvulaceae) em caprinos na Ilha do Marajó, Pará. Pesq. Vet. Bras., v. 29, n. 7, p. 583-588, 2009.

OLIVEIRA, G.R. Neurotoxicose em bovinos associada ao consumo de “cevada” (bagaço de malte) contaminada por *Aspergillus clavatus* no Estado do Rio de Janeiro. 2001. 88p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2016.

PAULOVICH, F.B.; PORTIANSKY, E.L.; GIMENO, E.J.; SCHILD, A.L.; MÉNDEZ, M. C.; RIET-CORREA, F. Lectin Histochemical Study of Lipopigments Present in the Cerebellum of *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* intoxicated Cattle. J. Vet. Med. A, v. 49, p. 473-477, 2002.

PEDROSO, P.M.O.; PESCADOR, C.A.P.; OLIVEIRA, E.C.; SONNE, L.; BANDARRA, P.M.; RAYMUNDO, D.L.; DRIEMEIER, D. Intoxicações naturais por plantas em ruminantes diagnosticadas no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS no período de 1996-2005. Acta. Sci Vet., v. 35, p. 213-218, 2007.

PEDROSO, P.M.O.; DE OLIVEIRA, L.G.S.; CRUZ, C.E.F.; SOARES, M.P.; BARRETO, L.R.B.; DRIEMEIER, D. Doença do armazenamento lisossomal induzida pelo consumo de *Sida carpinifolia* em bovinos do Rio Grande do Sul. Pesq. Vet. Bras., v. 30, n. 10, p. 833-838, 2010.

PESSOA, C.R.M.; MEDEIROS, R.M.T.; PESSOA, A.F.A.; DANTAS, A.F.M.; OLIVEIRA, O.F.; RIET-CORREA, F. Doença tremorgênica em ruminantes e equídeos no semiárido da Paraíba. Pesq. Vet. Bras., v. 30, n.7, p.541-546, 2010.

PESSOA, C.R.M.; RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R.M.T.; SIMÕES, S.V.D.; RAPINI, A. Poisoning by *Marsdenia hilariana* and *Marsdenia megalantha* (Apocynaceae) in ruminants. *Toxicon*, v. 58, p. 610-613, 2011.

PESSOA, C.R.M.; MEDEIROS, R.M.T.; RIET-CORREA, F. Importância econômica, epidemiologia e controle das intoxicações por plantas no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.*, v.33, n.6, p.752-758, 2013.

PETERSON, D.W.; BRADFORD, H.F.; MANTLE, P.G. Actions of a tremorgenic mycotoxin on amino acid transmitter release in vivo. *Biochem. Pharmacol.*, v.31, n.17, p.2807-2810, 1982.

PHILIPPE, G. Lolitrem B and Indole Diterpene Alkaloids Produced by Endophytic Fungi of the Genus *Epichloë* and Their Toxic Effects in Livestock. *Toxins*, v. 8, n. 2, p. 47-63, 2016.

PONGPRAYOON, U.; BOHLIN, L.; SANDBERG, F.; WASUWAT, S. Inhibitory effect of extract of *Ipomoea pes-caprae* on guinea-pig ileal smooth muscle. *Acta. Pharm. Nordica*, v. 1, p. 41-44, 1989.

PONGPRAYOON, U.; BOHLIN, L.; WASUWAT, S. Neutralization of toxic effects of different crude jellyfish venoms by an extract of *Ipomoea pes-caprae* (L). *R. Br. J Ethnopharmacol*, v. 35, p. 65-69, 1991.

PONGPRAYOON, U.; BAECKSTROM, P.; JACOBSSON, U.; LINDSTROM, M.; BOHLIN, L. Antispasmodic activity of beta-damascenone and E-phytol isolated from *Ipomoea pes-caprae*. *Planta Med.*, v. 58, p. 19-21, 1992.

PRUSINER, S.B. Prion diseases and the BSE crisis. *Sci. Am.*, v.272, n.1, p. 48-57, 1995.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. Clínica Veterinária - Um tratado de doenças de bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p

RAYMUNDO, D. L.; BANDARRA, P.M.; BOABAID, F.M.; SONNE, L.; GOMES, D.C.; DRIEMEIER, D. Clostridial diseases diagnosed in herbivores in Southern Brasil. *Acta Scientiae Vet.*, v.42, n. 1204, p. 1-8, 2014.

RECH, R.R.; RISSI, D.R.; RODRIGUES, A.; PIEREZAN, F.; PIAZER, J.V.M.; KOMMERS, G.D.; BARROS, C.S.L. Intoxicação por *Solanum fastigiatum* (Solanaceae) em bovinos: epidemiologia, sinais clínico e morfometria das lesões cerebelares. *Pesq. Vet. Bras.*, v.26, n.3, p. 183-189, 2006.

REGO, R.O.; AFONSO, J.A.B.; MENDONÇA, C.L.; SOARES, G.S.L.; TORRES, M.B.A.M. Alterações no SNC e morfometria cerebelar de bovinos intoxicados experimentalmente por *Solaum paniculatum*. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 32, n. 11, 2012.

RIBAS, N. L. K. de SÁ; CARVALHO, R. I.; DOS SANTOS, A.C.; VALENÇOELA, R.A.; GOUVEIA, A.F.; DE CASTRO, M.B.; MORI, A.E.; DE LEMOS, R.A.A. Doenças do sistema nervoso de bovinos no Mato Grosso do Sul: 1082 casos. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 33, n. 10, p. 1183-1194, 2013.

RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M.C.; SCHILD, A.L.; SUMMERS, B.A.; OLIVEIRA, J. A. Intoxication by *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* as a cause of cerebellar degeneration in cattle. *Cornell Vet*, v. 73, p. 240-256, 1983.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MÉNDEZ, M.C.; TAVARES, A.S.; RODRIGUES, J. O. Intoxicação por *Claviceps paspali* em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 3, n. 2, p. 59-65, 1983b.

RIET-CORREA, F.; MENDEZ, M.C.; SCHILD, A.L (Eds.). Intoxicações por plantas e micotoxícoses em animais domésticos. Montevideo: Editorial Hemisfério Sur, 1993. 340 p.

RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M.C.; PEREIRA, O.A.N.; SOARES, M.P.; VIEIRA, M.A.; SILVA, E.A.; SOARES, M.P. Intoxicação por *Halimium brasiliense* em ovinos, p. 32-37. In: SCHILD, A.L.; RIET-CORREA, F.; FERREIRA, J. L. M.; MÉNDEZ, M.C. (Eds). *Bolm. do Laboratório Regional de Diagnóstico, Fac. Veterinária, Convênio Embrapa/UFPel, Univ. Fed. Pelotas, RS.* 1995.

RIET-CORREA, F.; SOARES, M.P.; MENDEZ, M.C. Intoxicações em equinos no Brasil. *Cienc. Rural*, v. 28, n.4, 1998.

RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R.M. Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 21, n. 1, p. 38-42, 2001.

RIET-CORREA, F.; RIET-CORREA, G.; SCHILD, A.L. Importância do exame clínico para o diagnóstico das enfermidades do sistema nervoso em ruminantes e eqüídeos. *Pesq. Vet. Bras.*, v.22, n.4, p.161-168, 2002.

RIET-CORREA, F.; TABOSA, I.M.; AZEVEDO, E.O.; MEDEIROS, R.M.T.; SIMÕES, S.V.D.; DANTAS, A.F.M.; ALVES, C.J.; NOBRE, V.M.T.; ATHAYDE, A.C.R.; GOMES, A.A.; LIMA, E.F. Intoxicação por *Ipomoea asarifolia* e por *Ipomoea riedelii*. *Semi-árido em Foco*, v. 1, n.1, p. 58-60, 2003.

RIET-CORREA, F.; SILVA, D.M.; OLIVEIRA, O.F.; SIMÕES, S.V.D.; MEDEIROS, R.M.T.; NÓBREGA, R.S. Intoxicação por *Marsdenia* spp (mata-calado) em ruminantes. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 24 (Supl.), p. 50-51, 2004.

RIET-CORREA, G.; DUARTE, M.D.; BARBOSA, J.D.; OLIVEIRA, C.M.C.; CERQUEIRA, V.D.; BRITO, M.F.; RIET-CORREA, F. Meningoencefalite e polioencefalomalacia causadas por Herpesvírus bovino-5 no Estado do Pará. *Pesq. Vet. Bras.*, v.26, n.1, p. 44-46, 2006.

RIET-CORREA, F.; BARROS, S.S.; MÉNDEZ, M.C.; GEVER-FERNANDES, C.; PEREIRA, O.N.; SOARES, M.P.; McGAVIN, M.D. Axonal degeneration in sheep caused by the ingestion of *Halimium brasiliense*. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v. 21, p.478-486, 2009.

RIET-CORREA, F.; BEZERRA, C.W.C.; MEDEIROS, R.M.T (Eds.). *Plantas Tóxicas do Nordeste*. Santa Maria: Sociedade Vicente Pallotti, 2011. 82p.

RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R.M.T.; TOKARNIA, C.H.; CARVALHO, C.J.S.; FRANKLIN, F.L.A.A.; DIAS, A.C.S.; FERREIRA, R.M.M.; SILVA, S.M.M.S. Botulism by *Clostridium botulinum* type C in goats associated with osteophagia. *Small Rumin. Res.*, v.106, p. 201–205, 2012.

RIET-CORREA, F.; RIVERO, R.; ODRIOZOLA, E.; ADRIEN, M.L.; MEDEIROS, R.M.; SCHILD, A.L. Mycotoxicoses of ruminants and horses. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v. 25, n. 6, p.692–708, 2013.

RISSI, D.R.; OLIVEIRA, F.N.; RECH, R.R.; PIEREZAN, F.; LEMOS, R.A.A.; BARROS, C.S.L. Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. *Pesq. Vet. Bras.*, v.26, n.2, p. 123-132, 2006.

RISSI, D.R.; RECH, R.R.; PIEREZAN, F.; GABRIEL, A.L.; TROST, M.E.; BRUN, 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. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 27, p. 261-268, 2007.

RISSI, D.R.; PIEREZAN, F.; OLIVEIRA-FILHO, J.C.; LUCENA, R.B.; CARMO, P.M.S.; BARROS, C.S.L. Abordagem diagnóstica das principais doenças do sistema nervoso de ruminantes e equinos no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.*, v.30, n.11, p.958-967, 2002.

RIVERO, R.; RIET-CORREA, F.; DUTRA, F.; MATTO, C. Toxic plants and mycotoxins affecting cattle and sheep in Uruguay. In: RIET-CORREA, F.; FISTER, J.; SCHILD, A.L.; WIERENGA, T. (Eds.). *Poisoning by plants, mycotoxins and related toxins*. Oxfordshire: CABI Publishing, 2011. p. 25–34.

ROSKOV, Y.; ABUCAY, L.; ORRELL, T.; NICOLSON, D.; BAILLY, N.; KIRK, P.M.; BOURGOIN, T.; DEWALT, R.E.; DECOCK, W.; DE WEVER, A.; NIEUKERKEN, E.; ZARUCCHI, J.; PENEV, L. *Species 2000 & ITIS Catalogue of Life*, 28th March 2018, 2018. Disponível em: < [www.catalogueoflife.org/col](http://www.catalogueoflife.org/col) >. Acesso em: 30 março 2018.

SABATER-VILAR, M.; MASS, R.F.M.; BOSSCHERE, H.D.; DUCATELLE, R.; FINK-GREMMELS, J. Patulin produced by an *Aspergillus clavatus* isolated from feed containing malting residues associated with a lethal neurotoxicosis in cattle. *Mycopathologia*, v. 158, p. 419-426, 2004.

SALVADOR, S.C.; LEMOS, R.A.A.; RIET-CORREA, F.; ROEHE, P.M.; OSÓRIO, A.L.A.R. Meningoencefalite em bovinos causada por herpesvírus bovino-5 no Mato Grosso do Sul e São Paulo. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 18, n.2, p.75-82, 1998.

SANCHES, A.W.D.; LANGOHR, I.M.; STIGGER, A.L.; BARROS, C.S.L. Doenças do sistema nervoso central em bovinos no Sul do Brasil. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 20, n. 3, p. 113-118, 2000.

SANDALS, W.C.D. Acute salt poisoning in cattle. *Can. Vet. J.*, v.19, p. 136-137, 1978.

SANT'ANA, F.J.F.; RISSI, D.R.; LUCENA, R.B.; LEMOS, R.A.A.; NOGUEIRA, A.P.A.; BARROS, C.S.L. Polioencefalomalacia em bovinos: epidemiologia, sinais clínicos e distribuições das lesões no encéfalo. *Pes. Vet. Bras.*, v. 28, n.7, p. 487-497, 2009a.

SANT'ANA, F.J.F.; LEMOS, R.A.A.; NOGUEIRA, A.P.A.; TOGNI, M.; TESSELE, B.; BARROS, C.S.L. Polioencefalomalacia em ruminantes. *Pesq. Vet. Bras.*, v.29, n.9, p. 681-694, 2009b.

SANT'ANA, F.J.F.; BARBEITO, C.G.; NISHIDA, F.; GIMENO, E.J.; VERDES, J.M.; BATTES, D.; MORANA, A.; BARROS, C.S.L. Clinical and Pathological Aspects and Cerebellar Lectin Binding in Cattle Poisoned With *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* and *Solanum bonariense*. *Int. J. of Poisonous plant res.*, v.1, n.1, p. 28-34, 2011.

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. *Pesq. Vet. Bras.*, v.28, n.1, p.1-14, 2008.

SANTOS, A.M. Doença do armazenamento lisossomal induzida por *Sida planicaulis* cav. (malvaceae) em ovinos no estado do Rio de Janeiro. 2018. 73p. Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, 2018.

SCHMAHMANN, J.D. Disorders of the Cerebellum: Ataxia, Dysmetria of Thought, and the Cerebellar Cognitive Affective Syndrome. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.*, v. 16, n. 3, 2004.

SCHUSTER, J.L. Poisonous plants management problems and control measures on U.S. rangelands. In: KEELER, R.; VAN KAMPEN, K.R.; JAMES, L.F. (Eds.). *Effets of Poisonous Plants on Livestock*. New York: Academic Press, 1978. p.23-34.

SEITZ, A.L.; GIMENO, E.J.; TRAVERSO, S.D.; SCHMITZ, M.; ZLOTOWSKI, P.; COLODEL, E.M.; DRIEMEIER, D. Intoxicação espontânea por *Sida carpinifolia* (Malvaceae) em ovinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 29, 2002, Rio Grande do Sul. *Anais XXIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*, Rio Grande do Sul, 2002. resumo CCP 702.

SEITZ, A.I.; COLODEL, E.M.; BARROS, S.S.; DRIEMEIER, D. Intoxicação experimental por *Sida carpinifolia* em ovinos. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 25, n. 1, p. 15-20, 2005.

SILVA, D.M.; RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R.M.T.; OLIVEIRA, O.F. Plantas tóxicas para ruminantes e eqüídeos no Seridó Ocidental e Oriental do Rio Grande do Norte. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 26, n.4, p.223-236, 2006.

SOUZA, M.M.; MADEIRA, A.; BERTI, C.; KROGH, R.; YUNES, R.A.; CECHINEL-FILHO, V. Antinociceptive properties of the methanolic extract obtained from *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. *J. Ethnopharmacol.*, v. 69, p. 85-90, 2000.

SOUSA, R.S.; IRIGOYEN, L.F. Intoxicação experimental por *Phalaris angusta* (Gramineae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 19, n.3/4, p. 116-122, 1999.

STREIT, W.J.; SCHULTE, B.A.; BALENTINE, J.D.; SPICER, S.S. Histochemical Localization of Galactose-Containing Glycoconjugates in Sensory Neurons and Their Processes in the Central and Peripheral Nervous System of the Rat. *J. Histochem. Cytochem.*, v. 35, n. 10, p. 1042-1052, 1985.



- TABOSA, I.M.; SOUZA, J.C.A.; BARBOSA-FILHO, J.M.; ALMEIDA, R.N.; GRAÇA, D.L.; RIET-CORREA, F. Neuronal vacuolation of the trigeminal nuclei in goats caused by the ingestion of *Prosopis juliflora* pods (mesquite beans). *Vet. Human. Toxicol.*, v. 42, p. 155–158, 2000
- TABOSA, I.M.; RIET-CORREA, F.; BARROS, S.S.; SUMMERS, B.A; SIMÕES, S.V.D.; MEDEIROS, R.M.T.; NOBRE, V.M.T. Neurohistologic and ultrastructural lesions in cattle experimentally intoxicated with the plant *Prosopis juliflora*. *Vet. Pathol.*, v.43, p. 695-701, 2006.
- THOMAS, J.D.; GOODLETT, C.R.; WEST, J.R. Alcohol-induced Purkinje cell loss depends on developmental timing of alcohol exposure and correlates with motor performance. *Dev. Brain Res.*, v. 105, p. 159–166, 1998.
- TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER J.; CANELLA, C.F.C. Estudo experimental sobre a toxidez do “canudo” (*Ipomoea fistulosa* Mart.) em ruminantes. *Arqs Biol. Animal*, v. 3, p. 59-71, 1960.
- TOKARNIA, C.H., LANGENEGGER, J., LANGENEGGER, C.H., CARVALHO, E.V. Botulismo em bovinos no Piauí. *Brasil. Pesq. Agrop. Bras.* v.5, p. 465–472, 1970.
- TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER J.; CANELLA, C.F.C. Intoxicação experimental em bovinos pelas folhas de *Ricinus communis*. *Pesq. Agropec. Bras.*, Sér. Vet., v. 10, p.1-7, 1975
- TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; CANELLA, C.F.C. Intoxicação experimental por *Polygala klotzschii* em bovinos. *Pesq. Agropec. Bras.*, Sér. Vet., v.11, p. 73-86, 1976.
- TOKARNIA, C.H.; BRITO, M.F.; BARBOSA, J.D.; PEIXOTO, P.V.; DÖBEREINER, J (Eds). *Plantas Tóxicas do Brasil para animais de produção*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Helianthus, 2012. 586p.
- TORTELLI, F.P.; BARBOSA, J.D.; OLIVEIRA, C.M.C.; DUARTE, M.D.; CERQUEIRA, V.S.; OLIVEIRA, C.A.; RIET-CORREA, F.; RIET-CORREA, G. Intoxicação por *Ipomoea asarifolia* em ovinos e bovinos na Ilha de Marajó. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 28, n. 12, p. 622-626, 2008.
- TOWERS, N.R. Mycotoxin poisoning in grazing livestock in New Zealand. *Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod.*, v.66, p. 300–306, 2006.
- TRAVERSO, S.D.; COLODEL, E.M.; LORETTI, A.P.; SEITZ, A.L.; CORREA, A.M.; KRAUSPENHAR, C.; DRIEMEIER, D. Polioencefalomalácia em bovinos leiteiros no Rio Grande do Sul suplementados com enxofre. In: ENCONTRO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA, 10, 2001, São Paulo. *Anais 10º Enapave*, São Paulo, 2001. p.72
- TRAVERSO, S.D.; LORETTI, A.P.; DONINI, M.A.; DRIEMEIER, D. Lead poisoning in cattle in southern Brasil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.56, n.3, p.418-421, 2004
- UHLIG, S.; BOTHA, C.J.; VRÅLSTAD, T.; ROLÉN, E.; MILES, C.O. Indole-diterpenes and Ergot Alkaloids in *Cynodon Dactylon* Bermuda Grass. Infected with *Claviceps Cynodontis* from an Outbreak of Tremors in Cattle. *J. Agric. Food Chem.*, v. 57, p. 11112–11119, 2009.

- VALDES, J.J.; CAMERON, J.E.; COLE, R.J. Aflatrem: A Tremorgenic Mycotoxin with Acute Neurotoxic Effects. *Environ. Health Perspect.*, v.62, p. 459-463, 1985.
- VARGA, J.; RIGÓ, K.; TÓTH, B.; TÉREN, J.; KOZAKIEWICZ. Evolutionary Relationships among *Aspergillus* Species Producing Economically Important Mycotoxins. *Food Technol. Biotechnol.*, v.41, n. 1, p. 29–36, 2003.
- WANG, J.; HUANG, Y.; FANG, M.; ZHANG, Y.; ZHENG, Z.; ZHAO, Y.; SU, W. Brefeldin A, a cytotoxin produced by *Paecilomyces* sp. and *Aspergillus clavatus* isolated from *Taxus mairei* and *Torreya grandis*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, v.34, p.51-57, 2002.
- WASUWAT, S. Extract of *Ipomoea pes-caprae* (Convolvulaceae) antagonistic to histamine and jelly-fish poison. *Nature*, v. 225, p. 758-759, 1970.
- WATANABE, D.; INOKAWA, H.; HASHIMOTO, K.; SUZUKI, N.; KANO, M.; SHIGEMOTO, R.; HIRANO, T.; TOYAMA, K.; KANEKO, S.; YOKOI, M.; MORIYOSHI, K.; SUZUKI, M.; KOBAYASHI, K.; NAGATSU, T.; KREITMAN, R.J.; PASTAN, I.; NAKANISHI, S. Ablation of Cerebellar Golgi Cells Disrupts Synaptic Integration Involving GABA Inhibition and NMDA Receptor Activation in Motor Coordination. *Cell*, v. 95, p.17–27, 1998.
- WIEDENMANN, B.; FRANKE, W.W. Identification and Localization of Synaptophysin, an Integral Membrane Glycoprotein of Mr 38,000 Characteristic of Presynaptic Vesicles. *Cell*, v. 41, p. 1017-1028, 1985.
- WILMS, H.; SIEVERS, J.; DEUSCHL, G. Animals Models of Tremor. *Mov. Disord.*, v. 14, n.4, p. 557-571, 1999.

## ANEXOS

### **A. Enfermidades do SNC de bovinos frequentes no Brasil que podem eventualmente causar quadro clínico semelhante**

Algumas doenças que afetam o SNC podem apresentar sintomatologia semelhante à intoxicação por plantas tremorgênicas e, desta forma, é importante ter conhecimento das principais enfermidades que afetam bovinos.

#### **Plantas que podem causar encefalopatia hepática**

Plantas hepatotóxicas podem ser divididas em três grandes grupos: plantas que causam necrose hepática aguda, plantas que causam fibrose hepática e plantas que causam fotossensibilização. O grupo das plantas que causam cirrose hepática tem como princípio tóxico os alcalóides pirrolizidínicos (AP) e fazem parte desse grupo plantas do gênero *Senecio* spp. e *Crotalaria* spp. e a espécie *Echium plantagineum* (SANTOS et al., 2008; MÉNDEZ; RIET-CORREA, 2001; TOKARNIA et al., 2012). Lesões hepáticas difusas graves causadas por elas geralmente são acompanhadas de manifestações de encefalopatia hepática (E.H) (LUCENA et al., 2010), pois, como um evento terminal, os hepatócitos não sintetizam adequadamente a uréia, e a morte do animal é, frequentemente, devida à intoxicação por amônia no sistema nervoso central (MENDEZ; RIET-CORREA, 2001). A amônia é considerada a principal substância responsável pelas alterações neurológicas desses animais (LUCENA et al., 2010).

Os sinais clínicos que podem ser observados são variáveis, podendo ter um quadro patológico caracterizado por sinais neurológicas como incoordenação, agressividade (MENDEZ; RIET-CORREA, 2001; KARAM et al., 2004; LUCENA et al., 2010), andar compulsivo/em círculos (KARAM et al., 2004; LUCENA et al., 2010), pressão da cabeça contra objetos e opistótono (LUCENA et al., 2010) ou alterações relacionadas com a lesão hepática propriamente dita como emagrecimento progressivo, diarreia, tenesmo e ocasionalmente prolapso retal, fotossensibilização (MENDEZ; RIET-CORREA, 2001; KARAM et al., 2004; LUCENA et al., 2010), ascite, icterícia (MENDEZ; RIET-CORREA, 2001; LUCENA et al., 2010), pelos arrepiados e quebradiços (KARAM et al., 2004; LUCENA et al., 2010) e edemas de membros e barbela (MENDEZ; RIET-CORREA, 2001).

Macroscopicamente o fígado apresenta-se acentuada e difusamente firme, com cápsula cinzenta, áreas de aspecto nodular (nódulos de regeneração) e estes por vezes eram avermelhados ou amarelo-alaranjados; áreas com padrão lobular evidenciado e áreas hemorrágicas com proliferação de tecido fibroso na superfície; vesícula biliar distendida, com

parede edemaciada e hiperplasia polipoide na mucosa. Edema também pode ser observado no mesentério, abomaso e intestino linfonodos mesentéricos. Ascite e hidrotórax podem ser encontrados. Hemorragias nas serosas da cavidade abdominal e petéquias endocárdicas e pericárdicas já foram descritas (MENDEZ; RIET-CORREA, 2001; KARAM et al., 2004; LUCENA et al., 2010).

Microscopicamente no SNC observam-se lesões de encefalopatia hepática caracterizadas por microcavitações (espongiose) localizadas na substância branca (MENDEZ; RIET-CORREA, 2001; KARAM et al., 2004; LUCENA et al., 2010) e às vezes na substância cinzenta, localizadas preferentemente no córtex cerebral, cápsula interna, tálamo e tubérculos quadrigêmeos (MENDEZ; RIET-CORREA, 2001). As lesões histológicas do fígado consistem em megalocitose (aumento do tamanho do citoplasma e do núcleo, no qual, geralmente, encontra-se a cromatina condensada na periferia), fibrose dissecante ou difusa e proliferação de ductos biliares. Alguns casos podem apresentar nódulos regenerativos e degeneração/necrose de hepatócitos (MENDEZ; RIET-CORREA, 2001; KARAM et al., 2004; LUCENA et al., 2010). Infiltrado inflamatório pode ser observado em alguns casos (MENDEZ; RIET-CORREA, 2001; KARAM et al., 2004) bem como hiperplasia adenomatosa da mucosa da vesícula biliar (LUCENA et al., 2010).

### **Raiva**

A **raiva** é causada por um vírus do gênero *Lyssavirus* e apresenta uma glicoproteína de superfície responsável pelo neurotropismo desse agente. O vírus da raiva apresenta dois biotipos: "vírus fixo" e "vírus de rua". A denominação de "vírus fixo" é dada as cepas adaptadas em laboratório através de passagens intracerebrais em série e são utilizados para produção de vacinas. É altamente neurotrópico, não é secretada na saliva e não produz corpúsculos de inclusão (Negri). Por outro lado, o "vírus de rua" é isolado dos animais doentes nos surtos e, além do neurotropismo, tem tropismo para glândulas salivares (em que se atinge altas concentrações) e possivelmente outros epitélios mucossecretores além de produzir corpúsculos de inclusão (CANTILE; YOUSSEF, 2016). Diferentes mamíferos terrestres funcionam como reservatórios da doença, incluindo os morcegos (FERNANDES, 2001). A transmissão se dá quando um animal infectado inocula o vírus, contido na saliva, através de mordida. Outras formas de transmissão incluem a contaminação de feridas recentes com saliva ou material infectado, entretanto são muito menos perigosos. A contaminação de mucosas (olhos, narinas e boca) e a transmissão via aerossol também são relatadas. O período de incubação varia de semanas a meses. Apesar da diferença de susceptibilidade entre as

espécies, todos os mamíferos são susceptíveis (FERNANDES, 2001; CANTILE; YOUSSEF, 2016). A raiva é uma patologia endêmica em muitas partes do mundo e é a zoonose fatal que mais mata no mundo. Essa doença ocorre em todo Brasil e tem importância na maioria dos estados e regiões, tanto pelo potencial zoonótico como por determinar perdas econômicas na pecuária. Os morcegos hematófagos são o veículo mais eficiente de propagação do vírus rábico para os animais de produção, pois eles os agridem diariamente (FERNANDES, 2001).

A forma paralítica da raiva é a mais freqüente em bovinos e o período de incubação é longo, variando de 25-150 dias, quando transmitida por morcegos. Os animais afetados se isolam do lote, podendo apresentar dilatação pupilar, pelo eriçado, sonolência e depressão. Movimentos anormais dos membros posteriores, lacrimejamento e secreção nasal também podem ser observados. Os acessos de fúria são raros, porém podem ocorrer tremores musculares, inquietude e prurido no local da mordida do morcego, de modo que os animais roçam-se em superfícies, se infligindo novas lesões. Com o avanço da enfermidade, observa-se incoordenação muscular e contrações tônico-clônicas de músculos do tronco e extremidades. Os animais demonstram dificuldade de deglutição e parada ruminal. No final, caem e permanecem em decúbito até a morte. Os sinais de paralisia apresentam-se 2-3 dias depois do início dos sinais. A enfermidade dura 2-5 dias, embora, em alguns casos, possa estender-se até 8-10 dias (ACHA; SZYFRES, 2003).

Macroscopicamente não são observadas lesões, embora achados como ferimentos, mutilação e corpos estranhos no estômago, sejam indicativos da doença (FERNANDES, 2001; CANTILE; YOUSSEF, 2016). Histologicamente encefalomielite não supurativa (CANTILE; YOUSSEF, 2016; FERNANDES, 2001) multifocal, moderada (CANTILE; YOUSSEF, 2016) com ganglioneurite (FERNANDES, 2001; CANTILE; YOUSSEF, 2016) e inflamação na glândula parótida (CANTILE; YOUSSEF, 2016) e meningite cranio-espinal (FERNANDES, 2001). Uma das lesões mais características da raiva é a presença dos corpúsculos de Negri, que são corpúsculos de inclusão viral, intracitoplasmáticos, redondos a ovais, com 0,25-27mm, eosinofílicos, individuais ou múltiplos, que ocorrem em todas as espécies (FERNANDES, 2001; CANTILE; YOUSSEF, 2016)

### **Botulismo**

O **botulismo** é uma intoxicação resultante da ingestão de toxina previamente formada pela bactéria anaeróbia *Clostridium botulinum* (DUTRA et al., 2001). Desde o início da década de 80 o estudo dessa patologia ganhou grande destaque pois esta causa expressivos prejuízos econômicos em rebanhos de corte pelo número elevado de animais envolvidos

(LISBÔA et al., 1996) e pela alta letalidade (DUTRA et al., 2001; DUTRA; DÖBEREINER; SOUZA, 2005) . As toxinas envolvidas em surtos dessa doença no Brasil são dos tipos C, D ou complexo CD (DUTRA et al., 1993) e os animais se contaminam pela ingestão de carcaças contaminadas (osteofagia) (TOKARNIA et al., 1970; DUTRA et al., 1993; DUTRA et al., 2001; RIET-CORREA et al., 2012; RAYMUNDO et al., 2014), hábito comum em animais com deficiência de fósforo (TOKARNIA et al., 1970; LISBÔA et al., 1996), água contaminada (DUTRA et al., 2001) e outros alimentos contaminados incluindo soja, resíduos de restaurante (RAYMUNDO et al., 2014) e cama de frango (DUTRA; DÖBEREINER; SOUZA, 2005).

A ocorrência do botulismo depende de uma série de fatores envolvendo a intensidade da contaminação ambiental pelos esporos de *C. botulinum*, a presença de substrato e a existência de condições ideais para a sua multiplicação e formação de toxina. Situações criadas pelos sistemas de produção e manejo dos animais nas fazendas determinam as formas e a intensidade dos surtos (DUTRA et al., 2001) sendo a criação extensiva, áreas com solo deficiente em fósforo, presença de carcaças no pastoreio e falha no manejo de nutrição mineral importantes condições epidemiológicas associadas ao aparecimento dessa doença (LISBÔA et al., 1996).

Em bovinos o quadro clínico se caracteriza por alterações no sistema locomotor como diminuição do tônus da musculatura dos membros, fraqueza, poliflexão dos membros, emboletamento, paresia evoluindo para paralisia flácida (varia de acordo com a evolução da doença), e desta forma os animais sofrem quedas e ficam em decúbito esternal ou lateral; redução do tônus muscular da língua, dificuldade de deglutição e mastigação, hipotonia ruminal, dificuldade respiratória. Os animais permanecem alertas e com apetite (LISBÔA et al., 1996; DUTRA et al., 2001; DUTRA; DÖBEREINER; SOUZA, 2005; RAYMUNDO et al., 2014). Em caprinos as alterações motoras são semelhantes, entretanto os animais apresentam uma torção de pescoço marcada (torcicolo) e muitos animais manifestam alterações de marcha por mais tempo que bovinos (RIET-CORREA et al., 2012). Os animais apresentam paralisia funcional motora sem interferência com a função sensorial o que ratifica a suposta ação da toxina a nível de junções neuromusculares (DUTRA et al., 1993; LISBÔA et al., 1996).

Não há alterações macroscópicas relevantes (DUTRA et al., 2001; DUTRA; DÖBEREINER; SOUZA, 2005; RIET-CORREA et al., 2012), embora já tenha sido relatado congestão pulmonar em alguns casos (RAYMUNDO et al., 2014) e fragmentos de osso no retículo/abomaso (LISBÔA et al., 1996). Histologicamente áreas de necrose hialina na

musculatura já foram descritas (RAYMUNDO et al., 2014), entretanto geralmente não são observadas alterações dignas de nota (RIET-CORREA et al., 2012). Laboratorialmente o diagnóstico pode ser realizado por meio de ensaio biológico em camundongos ou teste de microfixação do complemento, sendo o último mais eficaz na detecção quando o material é proveniente de bovinos intoxicados (DUTRA et al., 1993; LISBÔA et al., 1996).

### **Polioencefalomalácia (PEM)**

**Polioencefalomalácia (PEM)** é um termo descritivo que indica um diagnóstico morfológico em que necrose neuronal grave resulta em amolecimento (malácia) da substância cinzenta (pólio) do cérebro. Acreditava-se que a deficiência de tiamina era a única responsável por essa patologia, porém atualmente várias causas e diferentes mecanismos patogênicos, ou um único mecanismo patogênico disparado por diferentes agentes, são considerados responsáveis pelo aparecimento da doença (SANT'ANA et al., 2009b). Um fator que tem levado à conclusão de que a PEM está associada a carência de tiamina é a recuperação dos animais afetados mediante o tratamento com esta vitamina. Outro fato é a reprodução experimental da doença administrando-se experimentalmente análogos de tiamina como o amprólio (LEMOS; NAKAZATO, 2001).

O fosfato de tiamina é um importante co-fator na enzima transcetolase, importante na via das pentoses fosfato, que gera a maior parte do ATP utilizado pelos neurônios. A bomba sódio-potássio dependente de ATP é a maior responsável pelo controle osmótico intracelular e, portanto, uma disfunção nesse mecanismo permite acúmulo de sódio intracelular, o que estimula entrada de água na célula e tumefação celular, que dependendo do grau, pode levar à necrose neuronal. O crânio ósseo limita severamente a capacidade do cérebro de se expandir, tornando esse órgão especialmente vulnerável à necrose compressiva sob condições que promovem edema ou inchaço celular. A tiamina também é co-fator importante para enzimas do ciclo de Krebs. Os ruminantes dependem da produção de tiamina produzida pela microbiota ruminal (CEBRA; CEBRA, 2004).

Diversos fatores podem influenciar os níveis de tiamina nos ruminantes, entre elas a proliferação de bactérias produtoras de tiaminases (pode estar associada à ingestão de rações ricas em grãos), uso de anti-helmínticos e antibióticos orais e acidose ruminal. A ingestão de plantas que contêm tiaminases causa, também, a doença (LEMOS; NAKAZATO, 2001).

A PEM associada à intoxicação por enxofre é relatada de forma crescente na literatura e representa uma forma epidemiológica distinta dessa patologia (GOULD, 1998). Bactérias anaeróbicas do rúmex adaptadas a dietas ricas em carboidratos e sulfatos e pobre em fibras

produzem sulfeto de hidrogênio. O sulfeto inibe a respiração celular, levando a um grau de hipóxia que pode ser suficiente para provocar necrose de neurônios e PEM (CUMMINGS et al., 1995; RADOSTITS et al., 2002). A acidose ruminal também promove a formação desse gás. Altas quantidades de cobre, zinco ou molibdênio podem diminuir o risco de toxicose do enxofre formando complexos insolúveis (CEBRA; CEBRA, 2004), visto que a suplementação desses minerais (principalmente cobre) melhora os níveis de tiamina em ruminantes com dieta rica em enxofre (GOONERATNE et al., 1989). No Brasil o surto em bovinos descrito foi pela ingestão de ração com níveis altos de enxofre (TRAVERSO et al., 2001), entretanto a intoxicação por água salina com elevados níveis de enxofre (BEKE; HIRONAKA, 1991), ingestão de melão (altos níveis de enxofre) (GOULD, 1998) e pastejo em locais com plantas acumuladoras de enxofre (sementes) (GOULD, 2000) também são descritas.

A intoxicação por sal em ruminantes pode ocorrer após ingestão de grande quantidade de sal associada com restrição hídrica (SANDALS, 1978). As altas concentrações de sódio no SNC inibem a glicólise anaeróbica e dessa forma não ocorre o transporte ativo para fora do sistema nervoso. Com o acesso a água, as concentrações de sódio no sangue voltam ao normal, mas como no encéfalo permanecem altas, cria-se um gradiente osmótico e a água passa do sangue para o encéfalo, levando ao edema e posterior necrose (CEBRA; CEBRA, 2004).

A intoxicação por chumbo (Pb) ocorre quando os animais ingerem acidentalmente produtos que contêm chumbo (baterias, tintas, óleo ou graxa de motores de carros ou máquinas agrícolas, canos de Pb), pastam em locais contaminados (áreas próximas a indústrias que poluem por chumbo), em beiras de estradas com muito trânsito de veículos nos países onde continua sendo utilizada gasolina com Pb. Os animais mais afetados são os bovinos, principalmente jovens; isto por que o comportamento curioso e a tendência a lamber ou ingerir objetos estranhos os leva a ingerir esses produtos contendo chumbo (GAVA, 2001; RADOSTITS et al., 2002; CEBRA; CEBRA, 2004) e essa intoxicação é uma importante causa de necrose da substância cinzenta encefálica de bovinos (SANT'ANA et al., 2009b). O envolvimento do SNC ocorre após a ingestão de altas doses pelos animais (RADOSTITS et al., 2002). Essa substância, além de afetar o metabolismo dos eritrócitos e causar anemia (CEBRA; CEBRA, 2004), também causa disfunção nos capilares do SNC (GOLDSTEIN et al., 1974). A lesão vascular pode ser responsável por muitos dos sinais neurológicos e embora o mecanismo exato para lesão vascular seja desconhecido, provavelmente se relaciona com interferência da função enzimática. Devido às semelhanças clínicas entre a polioencefalomalácia e a toxose do chumbo, os efeitos sobre o metabolismo energético e o



equilíbrio iônico podem ser importantes na patogênese da doença neurológica (CEBRA; CEBRA, 2004).

A meningoencefalite por BoHV pode ter sinais clínicos e lesões semelhantes a PEM, com alterações compatíveis com malácia na substância cinzenta do SNC (SANT'ANA et al., 2009b). Como meningoencefalite por herpesvírus bovino-5 (BoHV-5) e (PEM) apresentam características epidemiológicas semelhantes, sugere-se que a meningoencefalite pode estar associada com a reativação de uma infecção latente por BoHV-5 em animais com PEM (DAVID et al., 2007)

Clinicamente o animal pode apresentar andar cambaleante e em círculos, incoordenação, tremores musculares, movimentos involuntários, opistótono, pressão da cabeça contra obstáculos, cegueira total ou parcial, bruxismo, sialorréia, diminuição do tônus da língua, nistagmo e estrabismo. Os animais afastam-se do rebanho e muitos são encontrados em decúbito lateral ou esternal e movimentos de pedalagem. Nas fases iniciais o animal pode apresentar certa agressividade e excitação. Se os animais não forem tratados com tiamina a morte ocorre, geralmente, 2-3 dias após o aparecimento dos sinais clínicos, entretanto, alguns animais morrem poucas horas após e outros permanecem até 10 dias em decúbito (LEMOS; NAKAZATO, 2001; SANT'ANA et al., 2009a; SANT'ANA et al., 2009b). Cegueira, que é associada à lesão no telencéfalo occipital, é um dos principais sinais descritos (SANT'ANA et al., 2009b). Em algumas causas de PEM outros achados clínicos podem auxiliar no diagnóstico. Em casos de animais intoxicados por enxofre um odor significativo de ovo em putrefação é exalado pelos animais intoxicados, que também pode ser verificado na avaliação macroscópica do rúmen (RADOSTITS et al., 2002). Isso ocorre em função da produção excessiva de sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S) no rúmen (GOULD, 2000). Bovinos intoxicados por sal também podem apresentar vômito, atonia ruminal, diarreia e dor abdominal, com evolução clínica de aproximadamente um dia; soro e a urina com tonalidade marrom ou vermelha são úteis na suspeita (CEBRA; CEBRA, 2004). Em casos de intoxicação por chumbo alguns animais apresentam atonia ruminal, cólica e diarreia fétida (SANT'ANA et al., 2009b).

Macroscopicamente, em casos de evolução rápida, os achados podem ser muito discretos e de difícil percepção, com sutil edema, tumefação, congestão e diminuição da consistência do cérebro. Nos casos com curso mais prolongado pode notar-se depressão e achatamento das circunvoluções, o cerebelo e o bulbo encontram-se deslocados caudalmente, em direção ao forame magno (herniação) como evidência marcada do edema (LEMOS; NAKAZATO, 2001; SANT'ANA et al., 2009a; SANT'ANA et al., 2009b). Áreas multifocais amolecidas e amareladas podem ser observadas no córtex e em alguns casos focos de

hemorragia são encontrados (LEMOS; NAKAZATO, 2001; SANT'ANA et al., 2009a). Nos casos crônicos pode haver estreitamento acentuado e até desaparecimento da substância cinzenta (SANT'ANA et al., 2009b). Existem ainda casos que não são observadas alterações macroscópicas (SANT'ANA et al., 2009a).

A lesão histológica característica da PEM é necrose neuronal segmentar e laminar; os neurônios necróticos são caracterizados por encarquilhamento e hipereosinofilia citoplasmáticas, picnose nuclear sem evidenciação nucleolar e desaparecimento da substância de Nissl. Ocasionalmente, os núcleos dos neurônios necróticos apresentavam aspecto vítreo. Edema (espongiose) perineuronal, perivascular e no neurópilo também são observados (LEMOS; NAKAZATO, 2001; SANT'ANA et al., 2009a; SANT'ANA et al., 2009b). Nos casos com lesões mais avançadas, numerosos macrófagos tumefeitos com citoplasma espumoso (células *gitter*) podem ser encontradas (LEMOS; NAKAZATO, 2001; SANT'ANA et al., 2009a). Os astrócitos também apresentam alterações, como hipertrofia e ocasionalmente se organizam em grupos de dois ou três com núcleos vesiculosos e tumefeitos (SANT'ANA et al., 2009a). O edema na substância cinzenta pode ficar acentuado e deixar o neurópilo com aspecto esponjoso (SANT'ANA et al., 2009a; SANT'ANA et al., 2009b). Em alguns casos, manguitos perivasculares focais ou multifocais leves de linfócitos e macrófagos podem ser encontrados. As principais alterações microscópicas predominam no córtex occipital, parietal e frontal, mas em muitos casos lesões menos acentuadas também foram detectadas no hipocampo, núcleos basais, tálamo, mesencéfalo e cerebelo (SANT'ANA et al., 2009a). Em alguns casos, observa-se marcado infiltrado de eosinófilos nos espaços perivasculares, regiões submeningeanas e neurópila. Esses achados são quase sempre observados nos casos em que há hemorragias na região cortical e são associados a intoxicação por cloreto de sódio (LEMOS; NAKAZATO, 2001). Em casos de intoxicação por chumbo, degeneração epitelial dos túbulos renais associada a corpúsculos de inclusão eosinofílicos intranucleares alcoolácidos resistentes (TRAVERSO et al., 2004) e vasculite (CEBRA; CEBRA, 2004) são adicionalmente observados. Na toxicose por enxofre, a espongiose pode afetar as camadas profundas de neurônios corticais e se estender para a substância branca adjacente e há necrose vascular multifocal com hemorragia (GOULD, 2000).

### **Meningoencefalite por herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5)**

O herpesvirus bovino tipo 5 é antígenicamente relacionado ao herpesvirus bovino 1, causador da Rinotraqueite Infecciosa Bovina (IBR). Ambos são neurotrópicos e ficam latentes no ganglio trigeminal, podendo ser reativados por stress, entretanto o tipo 1 raramente causa

encefalite enquanto o tipo 5 causa uma meningoencefalite necrotizante. Surtos ocorrem mais frequentemente na América do Sul. A infecção ocorre por contato direto, aerossóis ou por contato indireto através de comida, água ou semem contaminado. Geralmente ocorre como doença esporádica, mas pode ocorrer surtos em bezerros (CANTILE; YOUSSEF, 2016).

Clinicamente os animais apresentavam apatia, anorexia e isolamento do rebanho e os sinais neurológicos observados incluem alterações na marcha como ataxia, hipermetria, andar em círculos, movimentos de propulsão, andar à esmo com choque em obstáculo, incoordenação, marcha para trás, pressão da cabeça contra objetos, cegueira aparente, diminuição dos reflexos auditivos e cutâneos, nistagmo, tremores musculares mais evidentes na cabeça e pescoço, hiperestesia ao toque e ao som, trismo, bruxismo, diminuição do tônus lingual, dificuldade para apreensão de alimentos e deglutição de água, movimentos de pedalagem, opistótono, ocasionais convulsões, agressividade, decúbito prolongado, catatonía e morte; outros sintomas como corrimento seroso ocular e nasal, dispneia e sialorréia também foram descritos (SALVADOR et al., 1998; COLODEL et al., 2002c; ELIAS, SCHILD, RIET-CORREA, 2004; RIET-CORREA et al., 2006; RISSI et al., 2006).

Macroscopicamente alguns casos não apresentam alterações significativas ou apenas achados inespecíficos como congestão durante a necropsia; em outros casos áreas multifocais de malácia caracterizadas por áreas deprimidas, marrom ou amareladas, com aspecto amolecido e finamente granular ao corte, podendo medir até 3cm de diâmetro e com a evolução da doença, essas áreas se tornavam gelatinosas e acinzentadas. Essas lesões já foram descritas no córtex cerebral, tálamo, núcleos de base, cápsula interna, ventrículo lateral. Outras lesões observadas nesses casos foram achatamento das circunvoluções cerebrais, protusão do cerebelo pelo forame magno e áreas de hemorragia (SALVADOR et al., 1998; COLODEL et al., 2002c; ELIAS, SCHILD, RIET-CORREA, 2004; RIET-CORREA et al., 2006; RISSI et al., 2006).

Microscopicamente a lesão encontrada é classicamente uma meningoencefalite não supurativa difusa severa, podendo estar associada com áreas de malácia. As alterações inflamatórias incluem acúmulos meningeanos e manguitos perivasculares mononucleares (composto principalmente por linfócitos, macrófagos e ocasionais neutrófilos) e, por vezes, com vasculite. Ocasionalmente, neuronofagia, gliose multifocal ou difusa, tumefação de astrócitos e infiltrado inflamatório mononuclear difuso na neurópila, constituído principalmente por macrófagos pode ser observada. As áreas de malácia observadas estavam associadas com infiltração de células de Gitter (macrófagos espumosos) e, dependendo da extensão, a substituição da neurópila por células Gitter foi observada. Alterações

degenerativo-necróticas em neurônios também foram descritas como neurônios acentuadamente eosinofílicos, retraídos, com aumento do espaço perineuronal e por vezes o padrão de necrose era laminar, caracterizada por eosinofilia das camadas corticais superficiais; nessas áreas de lesão neuronal alterações como satelitose, neuronofagia, discreto número de macrófagos, distensão dos espaços perivasculares e vacuolização do neurópilo estavam geralmente associadas. Corpúsculos de inclusão intranucleares eosinofílicos que se apresentavam ao centro do núcleo com um alo claro em volta e a cromatina rebatida perifericamente foram observados em astrócitos e neurônios em algumas áreas. Notou-se correlação entre a reação inflamatória e a quantidade de corpúsculos de inclusão, quanto mais intensa a resposta inflamatória, maior a quantidade de corpúsculos encontrados (SALVADOR ET AL., 1998; COLODEL et al., 2002c; ELIAS, SCHILD, RIET-CORREA, 2004; RIET-CORREA et al., 2006; RISSI et al., 2006).

As patologias que podem eventualmente cursar com quadro clínico semelhante à intoxicação por plantas tremorgênicas estão resumidas no quadro 5.

**Quadro 5.** Doenças que podem cursar com sintomatologia de tremores e incoordenação

<b>Doença</b>	<b>Epidemiologia</b>	<b>Sitomatologia</b>	<b>Macroscopia</b>	<b>Microscopia</b>
Plantas que causam síndrome tremorgênica	Princípio tóxico desconhecido, provavelmente estas plantas induzam a perturbações na neurotransmissão por interferência nos seus mecanismos bioquímicos	Incoordenação, tremores musculares	Geralmente ausente	Geralmente ausente
Plantas que causam glicoproteinose	Geralmente a condição que leva à ingestão dessas plantas é a fome. O princípio tóxico é o alcaloide indolizidínico swainsonina, que inibe a atividade das enzimas $\alpha$ -manosidase lisossomal e $\alpha$ -manosidase II do aparelho de Golgi	Incoordenação motora com ataxia, dismetria, paresia e tremores musculares	Geralmente ausente	Tumefação e fina vacuolização de neurônios, células epiteliais da tireóide, rim, fígado e pâncreas
Micotoxicoses	Ingestão de plantas contaminadas por fungos (alcaloides índole-	Tremores (“stagers”), incoordenação	Ausente. Alguns autores descreveram aumento do líquido cefalo-raquidiano,	Alterações degenerativo-necróticas em células de Purkinje e lesões axonais

	dipertenóides). Regressão da doença quando animal para de ingerir planta contaminada		hemorragias subdurais ( <i>Claviceps paspali</i> ) e áreas pálidas nos músculos ( <i>Aspergillus clavatus</i> )	(esferoides) na camada granular. Necrose hialina na musculatura ( <i>A. clavatus</i> )
Raiva	Inoculação do vírus por saliva de animal contaminado (morcego hematófago associado em animais de produção)	Acessos de fúria com tremores musculares, inquietude, incoordenação muscular com contrações tônico-clônicas. Evolui para paralisia.	Ausente	Encefalomielite não supurativa com corpúsculos de Negri.
Botulismo	Toxina produzida por <i>Clostridium botulinum</i> . Associação com ingestão de fontes contaminadas como carcaças (osteofagia), água e alimentos.	Paralisia flácida	Ausente	Ausente. Necrose hialina já foi relatada.
Polioencefalomalácia	Pode ser causada por deficiência de tiamina ou intoxicação por enxofre, sal ou chumbo.	Nas fases iniciais o animal pode apresentar certa agressividade e excitação. Incoordenação, tremores musculares, pressão da cabeça contra obstáculos, cegueira, bruxismo e diminuição do tônus da língua.	Áreas multifocais amolecidas e amareladas no córtex, focos de hemorragia, herniação do cerebelo	Necrose neuronal segmentar e laminar, gitter cells, astrocitose, espongirose na substância cinzenta
BoHV tipo 5	A infecção ocorre por contato direto, aerossóis ou por contato indireto através de comida, água ou semem contaminado. Geralmente ocorre como doença esporádica, mas pode ocorrer surtos em bezerros	Incoordenação, pressão da cabeça contra objetos, cegueira, tremores musculares, hiperestesia, ocasionais convulsões, agressividade	Áreas multifocais deprimidas, marrom ou amareladas, com aspecto amolecido e finamente granular ao corte (malácia) e com a evolução da doença, essas áreas se tornavam gelatinosas e acinzentadas.	Meningoencefalite não supurativa difusa severa, podendo estar associada com áreas de malácia. Alterações degenerativo-necróticas em neurônios Corpúsculos de inclusão intranucleares eosinofílicos em astrócitos e neurônios

## B. Ficha de exame neurológico

### *Protocolo de Exame Clínico Neurológico*

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

RG: \_\_\_\_\_

Identificação do animal: \_\_\_\_\_

Tempo de evolução: \_\_\_\_\_

- Início / Curso: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

Exame físico: - Estado de nutrição: \_\_\_\_\_

- Atitude: \_\_\_\_\_

- Frequência respiratória: \_\_\_\_\_ mpm

- Grau de desidratação: \_\_\_\_\_ %

- Frequência cardíaca: \_\_\_\_\_ bpm

- Coloração de mucosas: \_\_\_\_\_

- Temperatura: \_\_\_\_\_ °C

- Linfonodos aparentes: \_\_\_\_\_

### EXAME NEUROLÓGICO

#### 1. CABEÇA:

NÍVEL DE CONSCIÊNCIA: ( ) Atento/Alerta ( ) Delírios ( ) Apático/Deprimido ( ) Semicomatoso/Estupor  
( ) Comatoso ( ) Hiperexcitabilidade

COMPORTAMENTO: ( ) Mugidos ( ) Bocejos ( ) Lamber ( ) Manias ( ) Convulsões  
( ) Agressividade ( ) Pressionar a cabeça ( ) Curso errante ( ) Andar compulsivo ( ) Balançar a cabeça  
( ) Andar em círculo ( ) Pressão da cabeça contra objetos ( ) Agressividade

POSTURA: ( ) Desvio lateral da cabeça ( ) Giro ortotônico da cabeça e pescoço ( ) Tremores  
( ) Balançar da cabeça ( ) Opistótono ( ) Pleurotótono

Outras observações:

---

---

---

---

---

---

---

---

## 2. Nervos cranianos:

N = Normal; A = Ausente; P = Presente; D = Diminuído; AA = Aumentado

Pares de Nervos		Direito	Esquerdo	
I – Olfatório				
II – Óptico (Visão)				
III – Oculomotor	Reflexo pupilar – direto (II, III)			
	Reflexo pupilar – consensual (II, III)			
	Reflexo pupilar – esquerdo (II, III)			
	Reflexo pupilar – consensual (II, III)			
	Estrabismo lateral			
IV – Troclear		Estrabismo dorso medial		
V - Trigêmio	Sens.	Reflexo palpebral		
		Sensibilidade da face		
	Mot.	Mastigação		
		Massa muscular		
VI - Abducente		Estrabismo medial		
VII – Facial (Motor)		Ptose auricular		
		Ptose palpebral		
		Ptose labial		
VIII – Vestibulococlear (Sistema Vestibular)		Audição		
		Desvio de cabeça		
		Estrabismo ventro-lateral		
		Nistagmo	Fisiológico	
			Horizontal	
			Vertical	
			Rotacional	
Posicional				
Fase rápida				
IX – Glossofaríngeo (Motor)		Deglutição		
X - Vago		Deglutição		
		“Slap Test”		
XI – Acessório		Atrofia esternocefálico		
		trapézio		
		braquiocefálico		
		omotransverso		
XII - Hipoglosso		Protrusão / Desvio de língua		
		atrofia		
		Apreensão de alimento e água		

		Direito	Esquerdo
Síndrome de Horner (SNA – simpático)	Miose		
	Enofalmia		
	Prolapso de 3 <sup>o</sup> - pálpebra		
	Sudorese (face, pescoço)		

Exame de fundo de olho: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

### 3. Andar:

**( A ) Ausente                      ( P ) Presente**

0 = padrão normal de locomoção;  
 1 = déficits dificilmente observados durante a locomoção em linha reta, mas confirmados após a realização de manobras especiais;  
 2 = déficits facilmente observados durante a locomoção em linha reta e exacerbados durante a realização de manobras especiais  
 3 = o animal pode cair quando manobras especiais são realizadas e geralmente apresentam posturas anormais mesmo quando parado;  
 4 = quedas espontâneas durante a locomoção;  
 5 = decúbito permanente

	Esquerdo		Direito	
	Anterior	Posterior	Anterior	Posterior
Ataxia				
Grau				

	Esquerdo		Direito	
	Anterior	Posterior	Anterior	Posterior
Parestia				
Hipermetria				
Hipometria				
Espasticidade				
Flacidez				

Observações:

\_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_



4. Pescoço, tronco e membros:

N = Normal; A = Ausente; P = Presente; D = Diminuído; AA = Aumentado
--

Massa muscular ( )

Sudorese ( )

Reflexo cervico-facial ( )

Reflexo músculo-cutâneo ( )

Observações:

---



---

Membros Anteriores		Esquerdo	Direito
Cascos (desgastes)			
Propriocepção			
Tônus			
Sensibilidade	superficial		
	profunda		
Reflexo biceptal			
Reflexo triceptal			
Reflexo carpo-radial			
Reflexo flexor			

Observações:

---



---



---



---



---



---

Membros Anteriores		Esquerdo	Direito
Cascos (desgastes)			
Propriocepção			
Tônus			
Sensibilidade	superficial		
	profunda		
Reflexo patelar			
Reflexo tibial cranial			
Reflexo gastrocnêmio			
Reflexo ciático			
Reflexo flexor			

Observações:

---



---



---



---



---



---

**5. Cauda e Ânus:**

N = Normal; A = Ausente; P = Presente; D = Diminuído; AA = Aumentado

		Cauda	Ânus
Atrofia			
Tônus			
Reflexos			
Sensibilidade	superficial		
	profunda		

**6. Palpação Retal:**

---

---

---

---

➤ **Local da lesão neurológica:** \_\_\_\_\_

➤ **Residente responsável:** \_\_\_\_\_

➤ **Docente responsável:**  
\_\_\_\_\_

➤ **Data e assinatura:** \_\_\_\_\_