

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA DE
RUMINANTES E EQUÍNOS
CAMPUS DE PATOS - PB**

**PLANTAS TÓXICAS QUE AFETAM O SISTEMA NERVOSO: INTOXICAÇÃO
POR *Ipomoea asarifolia* EM CAPRINOS E OVINOS; INTOXICAÇÃO POR
Hipochaeris radicata EM CAVALOS**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, em cumprimento dos requisitos necessários para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária de Ruminantes e Equídeos, área de concentração em toxicologia e patologia animal.

JOSÉ ALLAN SOARES DE ARAUJO

**PATOS, PB
2008**



Universidade Federal
de Campina Grande

**CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA DE
RUMINANTES E EQÜÍNOS
CAMPUS DE PATOS -PB**

**PLANTAS TÓXICAS QUE AFETAM O SISTEMA NERVOSO: INTOXICAÇÃO
POR *Ipomoea asarifolia* EM CAPRINOS E OVINOS; INTOXICAÇÃO POR
Hipochaeris radicata EM CAVALOS**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, em cumprimento dos requisitos necessários para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária de Ruminantes e Eqüídeos, área de concentração em toxicologia e patologia animal, sob a orientação do Professor Franklin Riet-Correa

JOSÉ ALLAN SOARES DE ARAUJO

**PATOS, PB
2008**

JOSÉ ALLAN SOARES DE ARAUJO

**PLANTAS TÓXICAS QUE AFETAM O SISTEMA NERVOSO: INTOXICAÇÃO
POR *Ipomoea asarifolia* EM CAPRINOS E OVINOS; INTOXICAÇÃO POR
Hipochaeris radicata EM CAVALOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária em Ruminantes e Eqüídeos da Universidade Federal de Campina Grande, para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Aprovado em 24 de março de 2008

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Franklin Riet-Correa
Orientador

Prof. Dra. Gabriela Riet-Correa Rivero
(1º membro)

Prof. Dr. José Augusto Basto Afonso da Silva
(2º membro)

DEDICATÓRIA

Dedico a minha família.

AGRADECIMENTO

À Deus pelo dom da vida e por sempre iluminar os caminhos, estando presente nos momentos felizes e estendendo a mão nas horas complicadas.

Aos meus pais, José Salvino e Teresinha Soares que mesmo diante de todas as dificuldades, não mediram esforços para dar qualidade a minha educação.

As minhas irmãs por me ajudar nos momentos difíceis, sempre tentando procurar soluções para os mesmos.

Aos demais familiares e amigos, sem vocês as dificuldades e problemas teriam sido bem maiores, tornando muito difícil as soluções.

Ao professores Franklin Riet-Correa e Rosane Maria Trindade de Medeiros pelo exemplo de profissionalismo, incentivo, paciência, por tudo.

Ao professor Antonio Flávio, pelo companheirismo, amizade e ajuda quando necessitei.

A todos os professores do mestrado e da graduação pela ajuda quando sempre surgiam dúvidas.

Aos companheiros de Patologia e toxicologia, Jackson, Talícia, Fabrício, Glauco, Tales, Juliana, Ricardo, Temístocles, Bruno, Kézia, Luciano, Diego, Lizanka, Radmarcio, Karla.

Ao CNPq pela concessão da bolsa

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	6
1.1 Referências	7
2. Capítulo I - INTOXICAÇÃO POR <i>Ipomoea asarifolia</i> EM CAPRINOS E OVINOS	8
Abstract	
Resumo	
2.1 Introdução	11
2.1.1 Figura 1	12
2.2 Material e métodos	13
2.3 Resultados	14
2.3.1 Quadro 1	16
2.3.2 Quadro 2	17
2.3.3 Quadro 3	18
2.3.4 Quadro 4	19
2.3.5 Figura 2	20
2.3.6 Figura 3	20
2.3.7 Figura 4	21
2.4 Discussão	21
2.5 Agradecimento	24
2.6 Referências bibliográficas	24
3. Capítulo II - HARPEJAMENTO EM CAVALOS CAUSADO POR <i>Hypochoeris radicata</i>	25
Abstract	
Resumo	
3.1 Tabela 1	30
3.2 Figura 1	31
3.3 Figura 2	31
3.4 Agradecimento	32
3.5 Referências bibliográficas	32
4. ANEXO I	34
4.1 Stringhalt in Brazilian horses caused by <i>Hypochoeris radicata</i>	34
Abstract	
4.3 Acknowledgements	38
4.3 References	38
4.4 Table 1	40
4.5 Figures legends	40
5. CONCLUSÕES	41
6. ANEXO II	42
7. ANEXO III	43

INTRODUÇÃO

No Brasil existem 15 plantas que afetam o sistema nervoso central de ruminantes e 4 que afetam o sistema nervoso de eqüídeos. *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum*, provavelmente, causa armazenamento de lipídios. A intoxicação afeta bovinos no Rio Grande do Sul. *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa*, *Ipomoea riedellii*, *I. sericophylla*, *Turbina cordata* e *Sida carpinifolia* contêm swainsonina e causam armazenamento de oligossacarídeos; as quatro primeiras afetam caprinos na região Nordeste. *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* afeta também ovinos e bovinos e *Turbina cordata* afeta bovinos e eqüinos. *S. carpinifolia* afeta caprinos, ovinos, bovinos e eqüinos no Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Rio de Janeiro e São Paulo (Tokarnia et al. 2000, Riet-Correa e Méndez 2007). *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* afeta também bovinos no Pantanal do Mato Grosso (Antoniassi et al. 2007). *Ipomoea asarifolia* é uma planta tremogênica que afeta caprinos, ovinos e bovinos no Nordeste e bovinos e ovinos na Ilha de Marajó. *Phalaris angusta* causa também uma síndrome tremorgênica em bovinos em Santa Catarina. *Halimium brasiliense* causa convulsões em ovinos no Rio Grande do Sul. *Equisetum* spp. causa deficiência de tiamina em eqüinos. *Prosopis juliflora* causa, em bovinos e caprinos, na região Nordeste, degeneração de neurônios do núcleo motor dos nervos cranianos, principalmente o núcleo motor do trigêmio. *Marsdenia* spp. causa paralisia em bovinos e ovinos no semi-árido do Nordeste. A intoxicação por *Erythroxylum argentinum* e *E. deciduum* afeta ovinos que ingerem os frutos caídos no chão, no Rio Grande do Sul, causando sinais nervosos e insuficiência respiratória. Outras plantas que afetam o sistema nervoso são *Ricinus communis* e *Canabis sativa* em bovinos e *Bambusa vulgaris* em eqüinos (Tokarnia et al. 2000, Riet-Correa e Mendez 2007).

Este trabalho de dissertação é constituído por dois trabalhos. O primeiro refere-se à intoxicação experimental por *Ipomoea asarifolia* (Convulvulaceae) em caprinos e ovinos e foi submetido à Pesquisa Veterinária Brasileira. O segundo trabalho, Stringhalt in Brazilian horses caused by *Hypochoeris radicata* (Harpejamento em cavalos causado por *Hypochoeris radicata*), enviado à Toxicon, descreve dois surtos e um caso isolado de intoxicação *Hypochoeris radicata*, causando harpejamento em cavalos no Estado do Paraná, Brasil, assim como a reprodução experimental em um eqüino.

Referências

- Antoniassi N.A.B., Ferreira E.V., Santos C.E.P., Campos J.L.E., Nakazato L. & Colodel E.M. 2007. Intoxicação espontânea por *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* (Convolvulaceae) em bovinos no Pantanal Mato-Grossense. *Pesq. Vet. Bras.* 27(10):415-418.
- Riet-Correa F. & Mendez M.C. 2007. Plantas e micotoxinas que afetam o sistema nervoso central, p.125-153. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A. & Borges J.R.J. Doenças de ruminantes e eqüídeos, terceira edição, vol 2, Pallotti, Santa Maria.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Peixoto P.V. 2000. Plantas Tóxicas do Brasil. Helianthus, Rio de Janeiro. 320p.

CAPÍTULO I
INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Ipomoea asarifolia* EM CAPRINOS E
OVINOS

Enviado à Pesquisa Veterinária Brasileira

Intoxicação experimental por *Ipomoea asarifolia* (Convolvulaceae) em caprinos e ovinos¹

Jose A. S. Araujo², Franklin Riet-Correa^{3*}, Rosane M. T. Medeiros³, Mauro P. Soares⁴
Diego M. Oliveira² e Fabricio K.L. Carvalho⁵

ABSTRACT.-Araujo J.A.S., Riet-Correa F., Medeiros R.M.T., Soares M.P., Oliveira D.M. & Carvalho F.K.L. 2008. [**Experimental poisoning by *Ipomoea asarifolia* (Convolvulaceae) in goats and sheep.**] Intoxicação experimental por *Ipomoea asarifolia* (Convolvulaceae) em caprinos e ovinos. Hospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Patos, PB 58700-000, Brazil. E-mail: franklin.riet@pq.cnpq.br.

Ipomoea asarifolia causes a tremogenic syndrome in sheep, goats, cattle and buffaloes. The objectives of this experiment were to determine the toxicity to goats of fresh *I. asarifolia* collected during the raining and dry season, to determine the toxicity of the dry plant, to determine the toxicity of the plant to sheep, and to determine if the active principle is eliminated through milk. In the first experiment the plant collected in the dry and raining season was fed to 16 goats. The plant collected during the dry season causes clinical signs at the daily doses of 5 and 10g per kg body weight (g/kg bw). The plant collected during the raining season was toxic at the daily doses of 20 and 30g/kg bw, demonstrating that the plant is more toxic during the dry period. The dry plant collected in the dry season was fed to 9 goats at doses of 1.7, 2, 3.4 and 5.1 g/kg bw. Daily doses of 3, 4 and 5.1g/kg bw cause clinical signs, demonstrating that the plant maintains its toxicity after being dry. The fresh plant collected during the dry and raining season was fed to 10 sheep. The plant collected in the dry season was toxic at the dose of 5g/kg bw, and the plant collected in the raining season was toxic at the doses of 10 and 20 g/kg bw. These results suggest that sheep are more susceptible than goats to the intoxication. Because some farmers mentioned that young lactating, non grazing,

¹ Enviado para publicação em.....

Aceito em.....

² Pós-Graduando de Mestrado em Medicina Veterinária em Ruminantes e Equídeos, Hospital Veterinário, CSTR, UFCG, 58700-000 Patos, PB. E-mail: araujojas@yahoo.com.br.

³ Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, 58700-000 Patos, Paraíba, Brasil. * Autor para correspondência: Franklin.riet@pesquisador.cnpq.br

⁴ Laboratório Regional de Diagnóstico. Faculdade de Medicina Veterinária, UFPEL, 96010-900 Pelotas, RS.

⁵ Bolsista de Iniciação Científica, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, 58700-00 Patos, Paraíba, Brasil.

lambs are poisoned by milk ingestion, *I. asarifolia* was fed at daily doses of 2.5, 5 and 10g/kg bw for variable periods to 5 sheep from the day of parturition (2 sheep), after the last day of pregnancy (1 sheep) and 60 days before parturition (2 sheep). The sheep but not the lambs showed clinical signs of intoxication suggesting that the active principle is not eliminated through the milk at toxic doses for the lambs. In one sheep euthanized there were no gross or histologic lesions. The main ultrastructural findings were found in Purkinje cell dendrites and included swelling, decrease or absence of dendritic spines, decrease or absence of neurotubules and neurofilaments and vacuolation of the dendroplasm. Swelling of the smooth endoplasmic reticulum and granular eletrondense inclusions in dendroplasm were observed. Swelling of the astrocyte foot processes was conspicuous. It is proposed that *Ipomoea asarifolia* have a toxin that induces excitotoxicity with neurological disturbances and morphological changes in Purkinje cell dendrites.

INDEX TERMS: Goats, *Ipomoea asarifolia*, sheep, Purkinje cells, swollen dendrites, exitotoxicity, toxic plants, tremogenic toxins.

RESUMO.-*Ipomoea asarifolia* causa uma síndrome tremorgênica em ovinos, caprinos, bovinos e búfalos. Este experimento teve como objetivos determinar a toxicidade para caprinos de *I. asarifolia* verde, colhidas nas épocas de chuva e de estiagem, e da planta seca triturada, determinar a toxicidade da planta para ovinos; e determinar se o princípio ativo da planta é eliminado pelo leite em doses tóxicas para os cordeiros. No primeiro experimento a planta fresca colhida na época de estiagem e na época de chuvas, foi administrada a 16 caprinos. A planta colhida na estiagem foi tóxica na dose diária de 5 e 10g por kg de peso vivo (g/kg pv). A planta colhida na época de chuva foi tóxica na dose diária de 20 e 30g/kg pv, demonstrando que a planta é mais tóxica durante o período seco. A planta seca, colhida na época de estiagem foi administrada a 9 caprinos em doses diárias de 1.7, 2, 3.4 e 5.1 g/kg pv. Doses de 3, 4 e 5.1g/kg pv causaram sinais clínicos, demonstrando que a planta mantém a toxicidade após a secagem. A planta fresca colhida na época de estiagem e na época de chuvas foi administrada a 10 ovinos. A planta colhida na estiagem foi tóxica na dose diária de 5g/kg pv e na época de chuva foi tóxica nas doses de 10 e 20 g/kg pv. Estes resultados sugerem a maior susceptibilidade dos ovinos à intoxicação do que os caprinos. Como alguns produtores mencionam que cordeiros lactentes que não estão pastando se intoxicam através do leite, *I. asarifolia* foi administrada diariamente nas doses de 2.5, 5 e 10g/kg a 5 ovelhas,

a partir do dia do parto (2 ovelhas), do último dia de prenhez (1 ovelha) e 60 dias antes da parição (2 ovelhas). As ovelhas, mas não os cordeiros, apresentaram sinais clínicos, sugerindo que o princípio ativo da planta não é eliminado no leite ou colostro em doses tóxicas para os cordeiros. Em um ovino eutanasiado não foram observadas lesões macroscópicas nem histológicas. Os achados ultra-estruturais mais significativos foram encontrados nos dendritos das células de Purkinje e incluíam tumefação, decréscimo ou ausência das espículas dendríticas, diminuição ou ausência de neurotúbulos e neurofilamentos, vacuolizações do dendroplasma, tumefação do retículo endoplasmático liso e inclusões eletro-densas no dendroplasma. Tumefação dos processos astrocitários era bastante evidente. Sugere-se que *Ipomoea asarifolia* possui uma toxina que induz excitotoxicidade acompanhada de distúrbios neurológicos e alterações morfológicas nos dendritos das células de Purkinje.

TERMOS DE INDEXACÃO: Caprinos, células de Purkinje, excitotoxicidade, *Ipomoea asarifolia*, ovinos, plantas tóxicas, toxinas tremorgênicas, tumefação de dendritos.

INTRODUÇÃO

Ipomoea asarifolia R. et Schult. (Fig.1) (nome comum: salsa) da família Convolvulaceae é uma planta nativa na América tropical, que ocorre em regiões da América do Sul e Central. No Brasil é muito comum na Amazônia e em todo o litoral da região Norte até os Estados do Rio de Janeiro e São Paulo e região Nordeste (Kissmann e Groth 1992). É encontrada às margens de rios e lagoas, praias marítimas, em terrenos abandonados e nas margens das estradas (Tokarnia et al. 2000). No semi-árido é encontrada as margens de açudes e rios, em terrenos abandonados, nas margens de estradas, em áreas de baixios e próximos a reservatórios de água.



Fig.1. *Ipomoea asarifolia* (salsa), município de Patos, Paraíba.

Ipomoea asarifolia causa intoxicação em ovinos (Döbereiner et al. 1960, Tokarnia et al. 2000, Riet-Correa et al. 2003, Guedes et al. 2007), caprinos (Döbereiner et al. 1960, Tokarnia et al. 2000, Riet-Correa et al. 2003, Medeiros et al. 2003, Guedes et al. 2007) e bovinos (Döbereiner et al. 1960, Tokarnia et al. 2000, Riet-Correa et al. 2003, Barbosa et al. 2005). A intoxicação foi reproduzida experimentalmente em búfalos, mas a doença espontânea não tem sido observada nesta espécie (Barbosa et al. 2005). Os bovinos são, aparentemente, mais susceptíveis à intoxicação por *I. asarifolia* e desenvolvem a enfermidade após um único dia de consumo (Döbereiner et al. 1960). Os búfalos apresentam sensibilidade semelhante à dos bovinos, com a diferença que os sinais de incoordenação são menos acentuados do que nos bovinos, com a tendência dos búfalos permanecerem em decúbito esternal (Barbosa et al. 2005). A intoxicação ocorre, principalmente, durante as estações secas, quando os animais, devido a pouca disponibilidade de forragem, ingerem grandes quantidades desta planta, durante algumas semanas, como fonte principal de alimento. Desconhece-se se há variações de toxicidade da planta em diferentes épocas do ano. A intoxicação é mais freqüente em ovinos do que em outras espécies, afetando principalmente ovinos jovens e lactentes (Riet-Correa et al. 2003, Barbosa et al. 2005, Guedes et al. 2007). Desconhece-se se esta maior freqüência deve-se a uma maior susceptibilidade dos ovinos ou a que estes animais ingerem a planta com maior facilidade. Na intoxicação em ovinos chama a atenção que em alguns surtos são afetados animais muito jovens o que sugere que a toxina tremorgênica de *Ipomoea asarifolia* seja eliminada pelo leite. Além disso, um produtor do Ceará relatou que cordeiros filhos de ovelhas ingerindo salsa são afetados mesmo que permaneçam encerrados em quanto às mães estão pastejando em áreas com

salsa. Esses fatos sugerem a necessidade de se estudar a provável eliminação pelo leite da toxina da planta.

Estes experimentos tiveram como objetivos: determinar se há diferenças de toxicidade de *Ipomoea asarifolia* para caprinos na época de chuva e na estiagem; determinar a toxicidade da planta seca; determinar a toxicidade da planta para ovinos; determinar se o princípio ativo é excretado pelo leite; e realizar estudos histológicos e de microscopia eletrônica de transmissão.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), CAMPUS de Patos, Paraíba. *I. asarifolia* usada nos experimentos foi colhida nos arredores do Hospital Veterinário. A planta fresca foi colhida imediatamente antes de sua administração. A planta seca foi colhida na época de estiagem, colocada para secar na sombra durante 20 dias, triturada e administrada aos caprinos. Os caprinos e ovinos antes de iniciar o experimento, passaram por um período de adaptação e foram vermifugados. Todos os animais receberam feno de *Cynodon dactylon* (capim Tifton) e água à vontade mais ração comercial em quantidade equivalente a 1% do peso vivo.

Experimento 1. Toxicidade de *I. asarifolia* para caprinos nas épocas de estiagem e de chuvas

Foram utilizados 18 caprinos, Moxotó, com idades de 4 a 12 meses, sendo 16 experimentais e 2 controles. As doses e o tipo de planta administrada, colhida na época na estiagem e na chuvosa, apresentam-se no Quadro 1.

Experimento 2. Toxicidade de *I. asarifolia* seca para caprinos

Foram utilizados 11 caprinos, Moxotó, com idade de 4 a 12 meses, sendo 9 experimentais e 2 controles. As doses e o tipo de planta administrada, colhida na época de estiagem, apresentam-se no Quadro 2. O conteúdo de matéria seca de *I. asarifolia* foi determinado em duas amostras, uma na época da chuva e outra na época da seca. Para isso, a planta foi enviada para o Laboratório de Nutrição do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da UFCG.

Experimento 3. Toxicidade de *I. asarifolia* para ovinos

Foram utilizados 12 ovinos deslanados, sem raça definida, com idade de 6 meses a 2 anos de idade, sendo 10 experimentais e 2 controles. As doses e o tipo de planta administrada, colhida na época de estiagem e na chuvosa, apresentam-se no Quadro 3. O ovino 10 recebeu a planta até o 13º dia e no 14º foi eutanasiado e realizado estudo histológico do sistema nervoso central e de órgãos das cavidades abdominal e torácica e tireóides. Para microscopia eletrônica, foram coletados fragmentos do córtex do vermis cerebelar e de fragmentos da mesma localização de um ovino controle, poucos minutos após a interrupção da circulação cerebral. Pelo menos 6 fragmentos de cada caso foram fixados em solução de glutaraldeído 2%, paraformaldeído 2% tamponada com cacodilato de sódio. As amostras foram pós-fixadas em solução de tetróxido de ósmio tamponada com cacodilato de sódio, desidratadas em etanol e incluídas em Epon. Cortes semi-finos foram corados com azul de metileno e cortes ultra-finos selecionados, foram contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo e examinados em microscópio eletrônico de transmissão.

Experimento 4. Eliminação pelo leite do princípio ativo de *I. asarifolia*

Foram utilizadas 7 ovelhas deslanadas, sem raça definida, sendo 5 experimentais e 2 controles. Três ovelhas prenhes e duas paridas receberam *I. asarifolia* fresca. As doses e o tipo de planta administrada, colhida na época chuvosa, apresentam-se no Quadro 4. Após o parto, os cordeiros ficaram junto com as mães para que mamassem o colostro e o leite espontaneamente, a fim de determinar se o princípio ativo da *I. asarifolia* é excretado pelo leite e foram observados diariamente para identificação de sinais da intoxicação.

RESULTADOS

Os resultados das administrações de diferentes doses de planta fresca e seca a caprinos e ovinos constam nos quadros 1, 2, 3, 4 e 5.

Os sinais clínicos observados nos caprinos e ovinos caracterizavam-se por tremores musculares discretos dos membros e cabeça que se agravavam em 2-3 dias. Em ambas as espécies foram observados balançar da cabeça e pescoço, hipersensibilidade a ruídos ou movimentos, hipermetria, ataxia e permanência com os

membros abertos ou ficando deitado por longos períodos. Quando os animais eram movimentados ou assustados a incoordenação agravava-se e observaram-se andar de lado e quedas, às vezes em posições inusuais. Os ovinos apresentaram nistagmo e midríase e os caprinos pêlos arrepiados. Os animais não deixaram de se alimentar, havendo perda de peso somente em alguns caprinos (Quadro 1). Nas ovelhas houve perda de peso após o parto, porém poderia ter sido associada ao balanço energético negativo durante a lactação. Os cordeiros permaneceram mamando o colostro e o leite durante todo experimento e não apresentaram nenhum sinal de toxicose. A recuperação de todos os sinais clínicos dos três experimentos foi gradual sendo por último a desaparecer os tremores musculares. O ovino 10 que recebeu 20g/kg/dia durante 13 dias foi eutanasiado no 14º dia. Não foram observadas lesões significativas macroscópicas e histológicas. Na ultra-estrutura, alguns dendritos das células de Purkinje exibiam tumefação focal e perda de espículas. A tumefação foi acompanhada por diminuição dos neurotúbulos, neurofilamentos, vacuolizações do dendroplasma, e dilatação do retículo endoplasmático liso. Inclusões granulares eletro densas com 2 a 4µm foram observados no interior de dendritos tumefeitos (Fig.2). Em espículas remanescentes o colo estava encurtado e mais largo (Fig.3) e o aparelho espicular geralmente estava tumefeito e desorganizado. Tumefação dos processos astrocitários era bem evidente. Foram também observados dendritos de células de Purkinje bem preservados, com distribuição irregular em cortes de amostras da mesma ovelha (Fig.4).

O conteúdo de matéria seca de *I. asarifolia* foi de 20% e 20,45%, nas amostras colhidas na estiagem e na chuva, respectivamente.

Quadro 1. Experimento 1. Toxicidade de *I. asarifolia* para caprinos. Doses de *I. asarifolia* fresca, colhida nas épocas de estiagem e de chuva, ingeridas por cada caprino, peso do animal no início e no final da administração, observação dos sinais clínicos e recuperação dos animais

Caprino (N°)	Época de coleta da planta	Peso inicial (kg)	Peso final (kg)	Dose diária (g/kg)	Dose total (g/kg)	Dias de ingestão	Início dos sinais clínicos (dia)	Duração dos sinais clínicos (dias)	Recuperação (dias após o final da ingestão).
1	Estiagem	15	21,8	2,5	312,5	125	SS ^a	-	-
2	Estiagem	15,5	21	2,5	150	60	SS	-	-
3	Estiagem	13,5	Não foi pesado	5,0	115	23	19°	9	4
4	Estiagem	12	14,5	5,0	195	39	25°	22	7
5	Estiagem	15,5	15	10	320	32	18°	24	-
6	Estiagem	12,5	10	10	180	18	14°	22	-
7	Chuva	18,7	16,2	2,5	150	60	SS	-	-
8	Chuva	20,7	17,2	2,5	150	60	SS	-	-
9	Chuva	16,1	16,8	5,0	300	60	SS	-	-
10	Chuva	18,1	19,9	5,0	300	60	SS	-	-
11	Chuva	12,7	15,5	10	900	90	SS	-	-
12	Chuva	19	22	10	900	90	SS	-	-
13	Chuva	12,6	12,7	20	140	7	4°	8	5
14	Chuva	13,5	13,6	20	160	8	5°	8	5
15	Chuva	12,4	11,3	30	240	8	5°	9	6
16	Chuva	11	11,3	30	240	8	5°	8	5
17	Controle		Não foi pesado					SS	
18	Controle		Não foi pesado					SS	

^a SS= Sem sinais clínicos.

Quadro 2. Experimento 2. Toxicidade de *I. asarifolia* para caprinos. Doses de *I. asarifolia* seca, colhida na época de estiagem, ingeridas por cada caprino, peso do animal no início e no final da administração, observação dos sinais clínicos e recuperação dos animais

Caprino (N ^o)	Época de coleta da planta	Peso inicial (kg)	Peso final (kg)	Dose diária (g/kg)	Dose total (g/kg)	Dias de ingestão	Início dos sinais clínicos (dia)	Duração dos sinais clínicos (dias)	Recuperação (dias após o final da ingestão).
1	Estiagem	9,4	10,7	1,7 ^b	102	60	SS ^c	-	-
2 ^a	Estiagem	7,3	6,8	1,7	69,7	41	SS	-	-
3	Estiagem	7,6	9,3	1,7	102	60	SS	-	-
4	Estiagem	10	12,5	2,0	180	90	SS	-	-
5	Estiagem	15,5	17,7	2,0	180	90	SS	-	-
6	Estiagem	21	20,6	3,4	34	10	6 ^o	11	7
7	Estiagem	22	20,1	3,4	68	20	17 ^o	8	5
8	Estiagem	15,5	15,5	5,1	71,4	14	9 ^o	13	8
9	Estiagem	14,5	14,8	5,1	81,6	16	11 ^o	8	3
10	Controle	14	14,5	-	-	0	SS	-	-
11	Controle	13	14	-	-	0	SS	-	-

^a O animal morreu quando ingeria a planta, por que ocorreu falsa via. Porém ainda não apresentava sinais clínicos; ^b 1.7, 2, 3.4, e 5.1 g/kg de planta seca representaram, respectivamente, 8.5, 10, 17 e 25.5 g/kg de planta fresca; ^c SS= Sem sinais clínicos.

Quadro 3. Experimento 3. Toxicidade de *I. asarifolia* para ovinos. Dose de *I. asarifolia* fresca, colhidas na época de estiagem e de chuva, ingeridas por cada ovino, peso do animal no início e no final da administração, observação dos sinais clínicos e recuperação dos animais

Ovino (Nº)	Época de coleta da planta	Peso inicial (kg)	Peso final (kg)	Dose diária (g/kg)	Dose total (g/kg)	Dias de ingestão	Início dos sinais clínicos (dia)	Duração dos sinais clínicos (dias)	Recuperação (dias após o final da ingestão).
1	Estiagem	40	40,8	5	160	32	26°	14	8
2	Estiagem	40	41,2	5	185	37	31°	15	9
3	Chuva	12	14,4	2,5	150	60	SS ^b	-	-
4	Chuva	16	17,36	2,5	150	60	SS	-	-
5	Chuva	22,4	24,1	5,0	300	60	SS	-	-
6	Chuva	14	14,7	5,0	300	60	SS	-	-
7	Chuva	27	29,2	10	190	19	13°	16	10
8	Chuva	30	31,2	10	210	21	15°	16	10
9	Chuva	27	30,5	20	260	13	5°	18	11
10 ^a	Chuva	17,1	20,6	20	360	18	5°	13	-
11	Controle	Não foi pesado					SS		
12	Controle	Não foi pesado					SS		

^a O animal ingeriu a planta durante 13 dias e no 14° dia foi sacrificado; ^b SS= Sem sinais clínicos.

Quadro 4. Experimento 4. Dose de *L. asarifolia* ingerida por cada ovelha, peso do animal no início e no final da administração da planta, observação dos sinais clínicos e recuperação

Ovino (N ^o)	Época de coleta da planta	Peso inicial (kg)	Peso final (kg)	Parto (Dias após o início da ingestão da planta)	Dose diária (g/kg)	Dose total (g/kg)	Dias de ingestão	Início dos sinais clínicos (dia)	Duração dos sinais clínicos (dias)	Recuperação (dias após o final da ingestão).
13 ^a	Chuva	35,8	28,2	1	5 g/kg (1 dia) 10 g/kg (18 dias)	185	19	14 ^o	16	11
14	Chuva	41,5	40,3	0	10	160	16	10 ^o	20	14
15	Chuva	29,4	27,1	0	10	180	18	11 ^o	17	10
16 ^b	Estiagem	35	34,1	60	5 g/kg (31 dias) 2,5 g/kg (24 dias)	215	55	28 ^o	17	14
17 ^c	Estiagem	36	33,2	60	5 g/kg (25dias) 2,5 g/kg (29 dias)	197,5	54	22 ^o	17	13
18	Controle	36,3	34,1	-	-	-	-	-	-	-
19	Controle	39,8	37	-	-	-	-	-	-	-

^a O animal ingeriu uma dose de 5g/kg pv no dia seguinte pariu e começou a ingerir 10g/kg pv durante 18 dias; ^b O animal começou a ingerir a planta 60 dias antes da parição, na dose de 5 g/kg pv, no 28^o dia de administração começou apresentar sinais de toxicose, continuou ingerindo até o 31^o dia, nesse dia foi suspensa a administração e o animal passou 14 dias se recuperando, foi reiniciada a administração da planta na dose de 2,5 g/kg pv e no 15^o o animal pariu, continuando a administração por mais 9 dias. ^c O animal começou a ingerir a planta 60 dias antes da parição, na dose de 5 g/kg pv, no 22^o dia de administração começou apresentar sinais de toxicose, continuou ingerindo até o 25^o dia, nesse dia parou a administração e o animal passou 13 dias se recuperando. A administração foi reiniciada na dose de 2,5 g/kg pv e no 22^o dia, o animal pariu, continuando a ingestão por mais 7 dias.

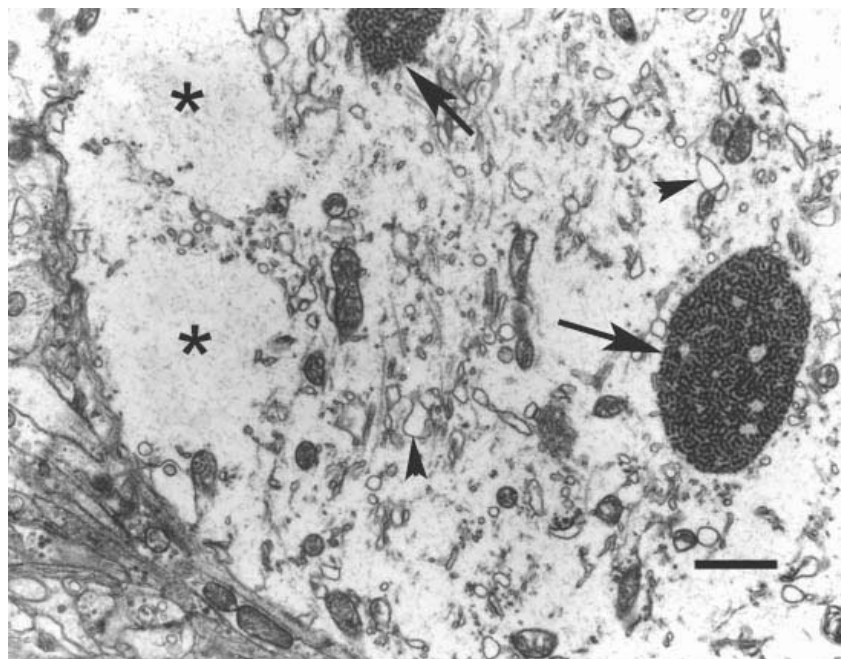


Fig.2. Cerebelo. Ovino 10. Micrografia eletrônica. Corte transversal de um dendrito de célula de Purkinje. Duas inclusões granulares (seta) e vacúolos (asterisco) em um dendroplasma flocular. Não são observadas espículas. Rarefação de neurotubulos e neurofilamentos. Dilatação das cisternas do retículo endoplasmático liso. (cabeça de seta). Barra = 1 μ m.

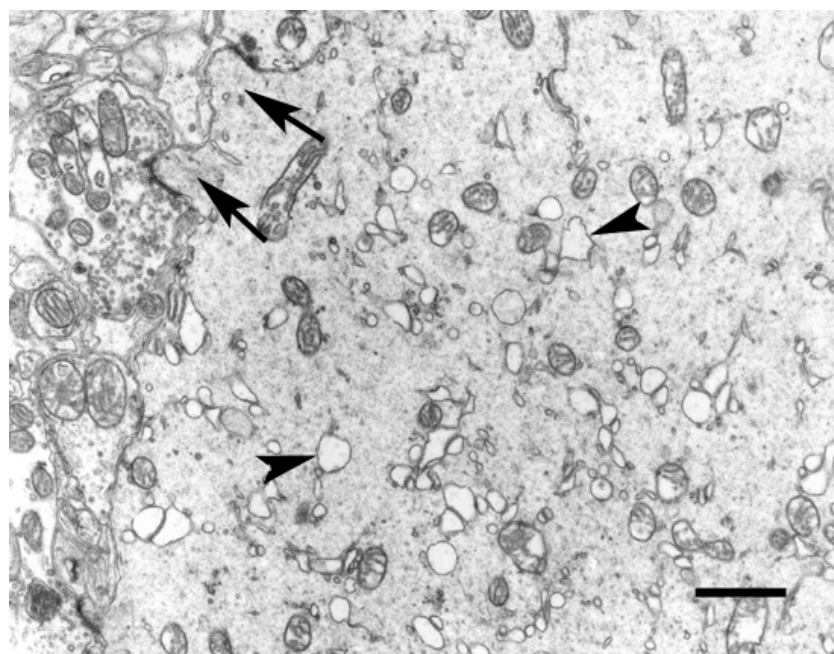


Fig.3. Cerebelo. Ovino 10. Micrografia eletrônica. Corte trasversal de um dendrito tumefeito. Acentuada diminuição dos neurotúbulos e neurofilamentos. Dilatação das cisternas do retículo endoplasmático liso. Duas espículas remanescentes mostram um colo mais largo e encurtado e aparelho espicular desorganbizado (seta). Barra = 1 μ m.

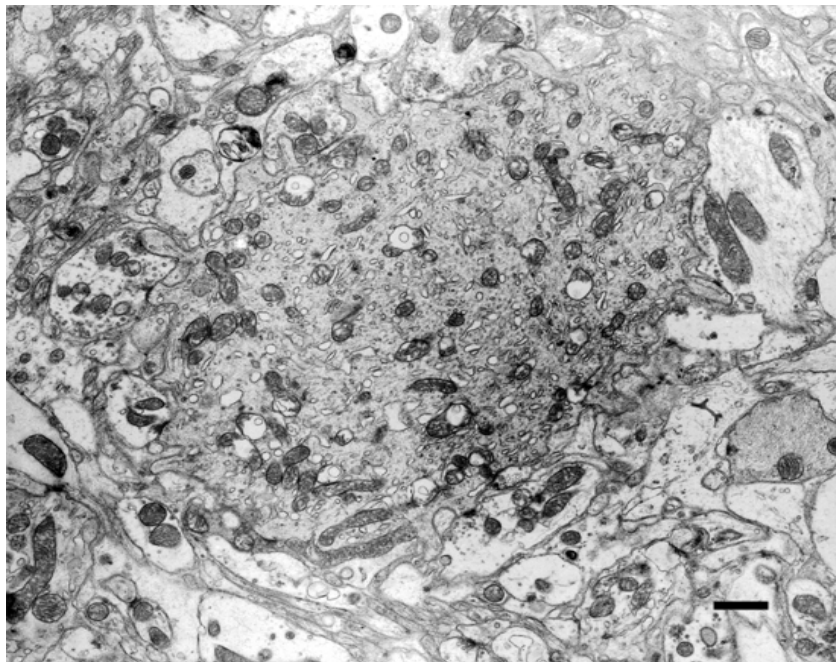


Fig.4. Cerebelo. Ovino 10. Micrografia eletrônica. Dendrito de célula de Purkinje. Elementos do citosqueleto e espículas estão bem preservados. Observa-se ausência de vacúolos e inclusões. Barra = 1 μ m.

DISCUSSÃO

A reprodução experimental da intoxicação demonstrou que *I. asarifolia* causa sinais clínicos semelhantes em caprinos e ovinos. No entanto, é sugestivo que os ovinos são mais sensíveis, já que se intoxicaram com 5g/kg pv (Experimento 4) e 10g/kg pv (Experimento 3) de planta colhida na época de chuva, o que não aconteceu com os caprinos que somente apresentaram sinais após a ingestão de doses diárias de 20g/kg pv na chuva (Experimento 1). Esta maior susceptibilidade dos ovinos à intoxicação pode explicar, pelo menos em parte, o fato de que os ovinos são mais frequentemente afetados do que os caprinos (Riet-Correa et al. 2003, Barbosa et al. 2005). Por outro lado, é conhecido que os ovinos jovens são mais afetados que os adultos (Riet-Correa et al. 2006, Guedes et al. 2007). Considerando que neste experimento não houve diferença de toxicidade entre ovinos jovens e adultos pareceria que a maior susceptibilidade dos cordeiros é devida a que estes ingerem mais facilmente a planta.

A intoxicação por *I. asarifolia* ocorre exclusivamente em épocas de estiagem devida, principalmente, à carência de forragem, que faz com que os animais ingiram a planta, que é pouco palatável, mas permanece verde o ano todo, desde que esteja em locais úmidos ou próximo a rios ou açudes. A constatação de que *I. asarifolia* é menos tóxica na época das chuvas (Quadro 1) sugere que esta menor toxicidade pode ser, também, um fator importante para a não ocorrência da intoxicação durante o inverno.

Segundo Dobereiner et al. (1960), os bovinos e ovinos intoxicados experimentalmente por *I. asarifolia* se recuperam após a parada da ingestão da planta, mas os caprinos geralmente morrem. No entanto, nossos resultados mostraram que a intoxicação é reversível em caprinos e ovinos. A morte de alguns animais em surtos espontâneos deve-se, provavelmente, a que os mesmos não têm condições de alimentar-se e permanecem em decúbito por muito tempo ou a que não são retirados das áreas com a planta. A regressão dos sinais clínicos após a suspensão da ingestão da planta demonstra que a retirada dos animais das pastagens invadidas por *I. asarifolia* é um método eficiente para controlar a intoxicação e evitar morte de caprinos e ovinos intoxicados. Nos casos experimentais, os ovinos recuperaram-se em 7-14 dias e os caprinos em 3-8 dias, o que sugere que os ovinos, provavelmente por serem mais sensíveis à intoxicação, demoram mais tempo em se recuperar.

Segundo Dobereiner et al. (1960), Medeiros et al. (2003) e Tokarnia et al. (2000) não ocorrem lesões histológicas significantes nos casos de intoxicação por *I. asarifolia*, o que foi constatado, também, no único ovino experimental que foi

eutanasiado. No entanto, em casos espontâneos de longa duração encontram-se lesões irreversíveis incluindo degeneração de células de Purkinje e esferóides axonais na camada granular do cerebelo, seguidos de perda de células de Purkinje com vacúolos na camada granular no local onde havia esferóides axonais (Guedes et al. 2007). No estudo ultra-estrutural de um animal experimental foram constatadas lesões nos dendritos das células de Purkinje. Tumefação dendrítica aguda e perda de espículas é uma característica patológica de ativação excessiva dos receptores do glutamato ou excitotoxicidade e foram consideradas como um mecanismo de defesa neuronal e são fenômenos reversíveis (Ikegaya et al 2001). A reversibilidade dos sintomas nas intoxicações espontâneas e experimentais por *I. asarifolia* está de acordo com aquelas observações. A tumefação dos dendritos com degradação do citosqueleto, diminuição das espículas dendríticas e tumefação dos processos astrocitários, observados na intoxicação por *I. asarifolia*, foram consideradas manifestações de excitotoxicidade induzida por substâncias contidas na planta, as quais produzem convulsões prolongadas com liberação de glutamato no espaço extracelular e conseqüente neurotoxicidade. Não foi encontrada uma explicação para o aparecimento das inclusões granulares nos dendritos tumefeitos. Do nosso conhecimento este é o primeiro relato de tais inclusões em dendritos. A constatação clínica de que depois de ter sido interrompida a administração da planta os sinais regredem e os animais se recuperam, robustece o caráter reversível da intoxicação e possivelmente das alterações dos dendritos e das células de Purkinje. No entanto, a presença de lesões irreversíveis em alguns casos espontâneos sugere que a reversibilidade das lesões é limitada a um período determinado de tempo, após o qual as lesões tornam-se irreversíveis.

A demonstração de que a planta seca mantém sua toxicidade comprova que a mesma não pode ser administrada como forragem após ser cortada ou fenada. Por outro lado, alguns produtores têm observado que os animais ingerem mais facilmente as folhas secas caídas da planta, o que não evita a intoxicação. Em bovinos, surtos de intoxicação são relatados em animais que consomem a planta seca ou murcha após ter sido arrancada e deixada ao alcance dos mesmos.

Neste trabalho não foi comprovada a hipótese de que o princípio ativo da planta passa pelo leite e pode intoxicar os cordeiros, já que no Experimento 4, os cordeiros mamando em ovelhas com sinais clínicos e ingerindo *I. asarifolia*, não foram afetados.

Agradecimentos.- Este projeto foi financiado pelo programa Institutos do Milênio (Proc. 420012/2005-2) e pelo Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX), processo Nº 001/04, CNPq, FAPESQ, MCT. Ao Professor Severo Sales de Barros pela realização da microscopia eletrônica e interpretação de resultados.

REFERÊNCIAS

- Barbosa J.D., Oliveira C.M.C., Duarte M.D., Peixoto P.V. & Tokarnia C.H. 2005. Intoxicação experimental e natural por *Ipomoea asarifolia* (Convolvulaceae) em búfalos e outros ruminantes. *Pesq. Vet. Bras.* 25(4):231-234.
- Dobereiner J., Tokarnia C.H. & Canella C.F.C. 1960. Intoxicação experimental pela “salsa” (*Ipomoea asarifolia* R. et Schult.). *Arq. Inst. Biol. An.*, Rio de Janeiro, 3:39-57.
- Guedes K.M.R., Riet-Correa F., Dantas A.F.M., Simões S.V.D., Miranda Neto E.G., Nobre V.M.T. & Medeiros R.M.T. 2007. Doenças do sistema nervoso central em caprinos e ovinos no semi-árido. *Pesq. Vet. Bras.* 27(1):29-30.
- Ikegaya Y., Kim J.A., Baba M., Iwatsubo T., Nishiyama N. & Atsuki N. 2001. Rapid and reversible changes in dendrite morphology and synaptic efficacy following NMDA receptor activation: implication for a cellular defense against excitotoxicity. *J. Cell Sci.* 114:4083-4093.
- Kissmann K.G. & Groth D. 1992. Plantas infestantes e nocivas. BASF Brasileira S.A, São Paulo, p. 683-685.
- 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. 2003. Tremorgenic syndrome in goats caused by *Ipomoea asarifolia* in northeastern Brazil. *Toxicon* 41:933-935.
- 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. 2003. Doenças dos ruminantes e eqüinos no semi-árido da Paraíba, Semi-árido em Foco 1(1):58-60.
- Riet-Correa F., Medeiros R.M.T. & Dantas A.F.M. 2006. Plantas tóxicas da Paraíba. UFCG/CSTR/HV, SEBRAE/PB, Patos, 58 p.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Peixoto P.V. 2000. Plantas Tóxicas do Brasil. Helianthus, Rio de Janeiro. p. 123-125.

CAPÍTULO II
INTOXICAÇÃO POR *Hypochaeris radicata* EM CAVALOS

Enviado à Toxicon

Harpejamento em cavalos causado por *Hypochaeris radicata*

J. A. S. Araujo^a, B. Curcio^b, J. Alda^b, R. M. T. Medeiros^a, F. Riet-Correa^{a2}

^aHospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Patos, Paraíba, Brazil, ^bSOMEVE-PR, Caixa Postal 120 - CEP 83190-000 - Tijucas do Sul, Paraná.

Abstract

Two outbreaks and one isolated case of Australian stringhalt are reported in horses in southern Brazil in paddocks invaded by *Hypochaeris radicata*. The disease was reproduced experimentally in one colt that ingested a daily mean of 9.8 kg of fresh *H. radicata* during 50 days. First clinical signs were observed 19 days after the start of the experiment when the animal was ingesting *H. radicata* collected in the paddock where the disease occurred and in a adjacent paddock. After day 22 the animal was fed during one week with *H. radicata* collected in paddocks from another farm, and recovered. On day 23 the colt had no clinical signs and returned to consume *H. radicata* collected on the paddock where the disease occurred. Mild signs were observed again on day 36, which were increased on day 43 and stayed stable on day 50, when the plant administration was stopped. Fifteen days after the end of the plant consumption the horse was fully recovered. The experimental reproduction of similar clinical signs in one colt fed with large amounts of *H. radicata* demonstrated that the disease is caused by this plant.

KEY WORDS: Australian stringhalt, *Hypochaeris radicata*, horses, distal axonopathy.

Resumo

Dois surtos e um caso isolado de harpejamento Australiano são relatados em cavalos no sul do Brasil, em piquetes invadidos por *Hypochaeris radicata*. A doença foi reproduzida experimentalmente em um potro que ingeriu uma média diária de 9,8 kg de *H. radicata* fresca durante 50 dias. Os primeiros sinais clínicos foram observados 19 dias após o início do experimento quando o animal estava ingerindo *H. radicata* colhida no piquete que ocorreu a doença e em um piquete adjacente. Após o 22^o dia o animal foi

² Autor correspondente Tel. : +558334233409; fax: +558334214659.
Email: franklin.riet@pq.cnpq.br (Franklin Riet-Correa)

alimentado durante uma semana com *H. radicata* colhida em piquetes de outro haras, e recuperou-se. No dia 23 o potro não tinha sinais clínicos e retornou a consumir *H. radicata* colhida no piquete que ocorreu a doença. Sinais leves foram observados novamente no 36^o dia, que aumentaram no 43^o dia e permaneceram estáveis no 50^o dia, quando a administração da planta foi interrompida. Quinze dias após o fim do consumo da planta o cavalo estava completamente recuperado. A reprodução experimental de sinais clínicos, similares aos observados nos casos espontâneos em um potro alimentado com grande quantidade de *H. radicata* demonstra que a doença é causada por essa planta.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: harpejamento Australiano, *Hypochaeris radicata*, cavalos, axonopatia distal.

Harpejamento (passo elevado com hiperflexão dos membros posteriores) é uma doença antiga dos cavalos, primeiramente descrita por Kendall em 1884 na Austrália (Huntington *et al.*, 1991; Slocombe *et al.*, 1992). Na Austrália (Huntington *et al.*, 1989), Nova Zelândia (Cahill *et al.*, 1985) e USA (Galey *et al.*, 1991; Gay *et al.*, 1993; Gardner *et al.*, 2005) a doença está associada com a ingestão de *Hypochaeris radicata*. A enfermidade é descrita também no Chile, mas não foi associada com *H. radicata* (Araya *et al.*, 1998). No Brasil foi descrita no Rio Grande do Sul (Rodrigues *et al.*, 2008) e Paraná (Ricardo Larrosa e Joaquim de Alda, 2006, dados não publicados). No Rio Grande do Sul, *H. radicata* foi observada nas pastagens de três de cinco haras onde ocorreu a doença (Rodrigues *et al.*, 2008). A enfermidade ocorre, principalmente, no final do verão e outono, geralmente em cavalos colocados em pastagens de má qualidade. Tem sido associada, também, com outras plantas, incluindo *Taraxacum officinal* e *Malva parviflora* (Huntington *et al.*, 1989; Cahill e Goulden, 1992; Araya *et al.*, 1998). Os sinais clínicos são caracterizados por andar alterado, com hiperflexão involuntária de um ou ambos os membros posteriores. Em alguns cavalos a hiperflexão é tão marcada que o membro flexionado bate no abdômen. Cavalos afetados têm dificuldade em andar para trás ou em círculos; o andar é dificultado e alguns animais apresentam saltos com os dois membros pélvicos juntos, semelhantes ao andar dos coelhos (Cahill and Goulden, 1992; Araya *et al.*, 1998; Rodrigues *et al.* 2008). Hemiplegia laríngea esquerda (cavalo roncador) pode estar associada ao harpejamento. Atrofia muscular é também observada nos membros posteriores (Slocombe *et al.*, 1992; Cahill *et al.*, 1986). Envolvimento dos membros anteriores é visto, ocasionalmente, em

forma de tropeços (Cahill and Goulden, 1992). A doença é uma axonopatia distal caracterizada histologicamente por degeneração axonal em nervos periféricos e atrofia muscular neurogênica (Cahill *et al.*, 1986; Slocombe *et al.*, 1992; Rodrigues *et al.*, 2008). Achados ultra-estruturais incluem desmielinização, regeneração e remielinização dos nervos periféricos (Rodrigues *et al.*, 2008). Quando retirados das pastagens muitos animais recuperam-se sem tratamento, em períodos variados, que pode ser de poucas semanas, até um ano ou mais (Pemberton & Caple, 1980; Galey *et al.*, 1991; Cahill e Goulden, 1992; Rodrigues *et al.*, 2008).

A doença associada com *H. radicata* ou outras plantas, designada como harpejamento Australiano, é diferente do harpejamento clássico. O harpejamento Australiano é mais severo, normalmente bilateral, ocorre em surtos, é sazonal, e muitos animais se recuperam espontaneamente. Harpejamento clássico é uma doença esporádica de causas não conhecidas que deve ser tratada cirurgicamente, por que não há recuperação espontânea (Cahill & Goulden 1992).

Os objetivos deste trabalho são descrever surtos de harpejamento no Estado do Paraná, Sul do Brasil, e a reprodução experimental da doença em um cavalo alimentado com *Hypochaeris radicata*.

Um surto da doença ocorreu em um haras, em Maio de 2004, durante a época de estiagem, afetando 4 de 29 éguas Puro-Sangue-Inglês. As éguas durante o dia permaneciam em um piquete de *Digitaria decumbens* e *Lolium multiflorum* severamente invadida por *H. radicata* (Fig. 1). *Taraxacum officinale* foi também encontrada nas pastagens em pouca quantidade. À noite as éguas eram colocadas em baias e suplementadas com alimentação concentrada. Três éguas recuperaram-se espontaneamente em 2-3 semanas e a outra em aproximadamente 7 meses. No mesmo haras, outra égua foi afetada em janeiro de 2007, também durante a época de estiagem. Sete meses depois dos primeiros sinais clínicos a égua ainda estava com sinais severos, com hiperflexão dos membros pélvicos, que tocavam o abdômen quando flexionados (Fig. 2). No final da flexão, o casco era mantido flexionado durante um momento e posteriormente batia firme no solo.

Em janeiro de 2007, em outro haras, na mesma região, foram afetados dois potros de dois anos de idade. Ambos animais foram introduzidos, aproximadamente um mês antes, em um piquete de duas hectares com uma pastagem de *Lolium multiflorum* e gramíneas nativas, severamente invadida por *H. radicata*. Os potros eram também

suplementados com aveia em grão. Ambos animais estavam severamente afetados quando foram retirados da pastagem. Em junho de 2007, um potro não tinha sinais de harpejo, mas tinha atrofia muscular dos músculos da coxa, principalmente o gastrocnêmio. Este potro estava aparentemente recuperado em setembro de 2007, mas após um curto período de treinamento apresentou disfunção laringiana (ronca). Hemiplegia laringiana foi diagnosticada por endoscopia e o potro foi descartado. O outro potro foi submetido a uma tenotomia do tendão do músculo extensor digital lateral, mas não recuperou-se e foi descartado em outubro de 2007.

Para a reprodução experimental da enfermidade, *H. radicata* foi administrada a um potro cruza (Puro-Sangue-Inglês x Crioulo Brasileiro) de 6 meses de idade. O experimento foi realizado no segundo haras onde foi constatada a doença. A planta foi colhida no piquete onde a doença ocorreu e em um piquete adjacente (Piquetes 1 e 2, respectivamente). Ocasionalmente, a planta foi também colhida de outros piquetes do haras (primeira semana) ou em piquetes de outro haras (quarta semana). A planta colhida no haras foi dada *ad libitum* imediatamente após a coleta. A planta colhida em outro haras foi administrada 1-2 dias após a coleta. O experimento iniciou em 22 de julho e o animal ingeriu uma média diária de 9,8 kg de *H. radicata* durante 50 dias. O potro também recebeu, diariamente, 1-2 kg de feno de alfafa e 390g de grãos de aveia achatada.

O cavalo experimental foi submetido a exame clínico completo uma vez por semana, e também no 19º dia quando apresentou os primeiros sinais clínicos. Amostras de sangue foram coletadas uma vez por semana para a determinação de concentrações séricas de uréia e creatinina, e atividade sérica de aspartato-aminotransferase (ALT), aspartato-alaninotransferase (AST), gama-glutamilttransferase (GGT), e fosfatase alcalina (FA). Também foi coletado fezes para exames parasitológicos. Todos os exames foram realizados em um laboratório privado (Laboratório de Análises Clínicas – LANAC) na cidade de Curitiba. A origem da planta consumida em cada semana e a presença de sinais clínicos apresentam-se na Tabela 1.

Os primeiros sinais clínicos, caracterizados por relutância a andar para traz ou em círculos, hipermetria e abdução dos membros posteriores, foram observados no 19º dia. No exame clínico do 22º dia, os sinais foram mais marcados e o animal mostrava saltos tipo coelho quando forçado a correr. Quando forçado a andar em círculos, um membro pélvico tocava o outro. O animal arrastava a face anterior dos cascos dos membros posteriores durante o passo e quando caminhava em uma superfície inclinada

o fazia com os membros abduzidos. Fraqueza dos membros pélvicos era evidenciada quando o cavalo era puxado pela cauda. Outras alterações não foram encontradas no exame do sistema nervoso central, mas o reflexo do pânículo estava aparentemente diminuído. Quando corria livre no piquete apresentava harpejamento dos membros posteriores e saltos tipo coelho. Após o exame do 22^o dia, o animal foi alimentado durante uma semana com *H. radicata* colhida em piquetes de outro haras, e recuperou-se. No 23^o dia, o potro não tinha sinais clínicos e retornou a consumir *H. radicata* colhida do Piquete 1. Sinais leves foram observados novamente no 36^o dia, que estavam aumentados no 43^o dia e permaneciam estáveis no 50^o, quando a administração foi parada (Tabela 1). Quinze dias após o fim do consumo da planta o cavalo estava completamente recuperado. Alterações não foram observadas nas atividades séricas de AST, ALT e FA, e na concentração sérica de creatinina, mas os níveis séricos de uréia estavam levemente aumentadas (53-59 mg/dL) no 8^o, 15^o, 36^o e 43^o dias. Nos 22^o, 29^o e 50^o dias os níveis de uréia estavam com valores normais.

Tabela 1

Administração de *Hypochaeris radicata* em um cavalo. Piquetes de coleta da planta, período de administração, dia do exame clínico e observação dos sinais clínicos.

Piquete (s) da coleta da planta	Período da administração da planta (dias)	Exame clínico (dia)	Presença dos sinais clínicos
Outros piquetes do haras	1-8	8 ^o	Ausente
Piquete 1*	9-15	15 ^o	Ausente
Piquete 2	16-22	19 ^o	Início dos sinais clínicos
Piquete 2	16-22	22 ^o	Presente
Piquetes do mesmo haras	23-29	29 ^o	Ausente
Piquete 1	30-36	36 ^o	Presente
Piquete 1	37-42	43 ^o	Presente
Piquete 1	43-50	50 ^o	Presente

*Casos espontâneos ocorreram no Piquete 1; o Piquete 2 era adjacente ao Piquete 1.



Fig. 1. *Hyochaeris radicata*. Inserido inflorescência e estames da planta. Município de Tijucas do Sul, Paraná.



Fig. 2. Égua afetada de harpejamento com o membro posterior esquerdo batendo no abdome.

A doença descrita neste trabalho é similar ao harpejamento Australiano descrito em outros países e também no Brasil (Huntington *et al.*, 1989; Cahill *et al.*, 1985; Galey *et al.*, 1991; Araya *et al.*, 1998; Rodrigues *et al.*, 2008). A reprodução experimental de sinais clínicos similares em um potro alimentado com grande quantidade de *H. radicata* demonstrou que a doença é causada por esta planta. Descrições anteriores associaram harpejamento Australiano com a presença de *H. radicata* nas pastagens (Pemberton e Caple, 1980; Cahill *et al.*, 1985; Huntington, *et al.*, 1989; Gardner, *et al.*, 2005), mas experimentos para reproduzir a doença administrando a planta não tiveram sucesso (Cahill e Goulden, 1992). A regressão dos sinais clínicos quando o animal experimental foi alimentado com planta de outro haras, e o retorno dos sinais após reiniciar a alimentação com a planta do haras onde ocorreu a doença sugere que há variações na toxicidade da *H. radicata*. Essas variações podem ser responsáveis pelas falhas para reproduzir a doença.

Todos os casos descritos neste trabalho ocorreram durante verão ou outono em pastagens severamente invadidas por *H. radicata*, mas a doença foi reproduzida durante o inverno, sugerindo que a mesma pode ocorrer em diferentes períodos do ano. A elevada frequência da doença durante e outono é, provavelmente, associada com escassez de foragem (Pemberton e Caple, 1980; Huntington *et al.*, 1989; Cahill e Goulden, 1992; Rodrigues *et al.*, 2008).

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelo Instituto do Milênio, CNPq, processo N° 420012/2005-2 e pelo Programa de Núcleos de Excelência (PRONEX), projeto N° 001/04, CNPq, FAPESQ, MCT.

Referências

- Araya, O., Krause, A., Solis de Ovando, M. 1998. Outbreaks of stringhalt in Southern Chile. *Vet. Rec.* 142, 462-463.
- Cahill, J.I., Goulden, B.E., 1992. Stringhalt – current thoughts on aetiology and pathogenesis. *Equine Vet. J.* 24, 161-162.
- Cahill, J.I., Goulden, B.E., Pearce, H.G., 1985. A review and some observations on stringhalt. *N. Z. Vet. J.* 33, 101-104.
- Cahill, J.I., Goulden, B.E., Jolly, R.D. 1986. Stringhalt in horses: a distal axonopathy. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 12, 459-475.

- Galey, F.D., Hullinger, P.J., McCaskill, J., 1991. Outbreaks of stringhalt in Northern California. *Vet. Hum. Toxicol.* 33, 176-177.
- Gardner, S.Y., Cook, A.G., Jortner, B.S., Troan, B.V., Sharp, N.J.H., Campbell, N.B., Brownie, C.F., 2005. Stringhalt associated with a pasture infested with *Hypochaeris radicata*. *Eq. Vet. Ed.* 7, 154-158.
- Gay, C.C., Fransen, S., Richards, J., Holler S., 1993. *Hypochaeris*-associated stringhalt in North America. *Eq. Vet. J.* 25, 456-457.
- Huntington, P.J., Jeffcott, L.B., Friend, S.C.E., Luff, A.R., Finkelstein, D.I., Flynn R.J., 1989. Australian stringhalt - epidemiological, clinical and neurological investigations. *Eq. Vet. J.* 21, 266-273.
- Huntington, P.J., Seneque, S., Slocombe, R.E, Jeffcott, L.B., McLean, A., Luff, A.R., 1991. Use of phenytoin to treat horses with Australian stringhalt. *Aust. Vet. J.* 68, 221-224.
- Pemberton, O.H., Caple, I. W., 1980. Australian stringhalt in horses. *Vet. Ann.* 20, 167-171.
- Rodrigues, A., De La Corte, F.D., Graça, D.L., Rissi, D.R., Schild, A.L., Kommers, G.D., Barros, C.S.L., 2007. Harpejamento em eqüinos no Rio Grande do Sul. *Pes. Vet. Bras.* 48, 23-28.
- Slocombe, R.E, Huntington, P.J., Friend, S.C.E., Jeffcott, L.B., Luff, A.R., Finkelstein, O.K., 1992. Pathological aspects of Australian stringhalt. *Eq. Vet. J.* 24, 174-183.

ANEXO I

Stringhalt in **Brazilian horses caused by *Hypochaeris radicata***

J. A. S. Araújo^a, B. Curcio^b, J. Alda^b, R. M. T. Medeiros^a, F. Riet-Correa^{a3}

^aHospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Patos, Paraíba, Brazil, ^bSOMEVE-PR, Caixa Postal 120 - CEP 83190-000 - Tijucas do Sul, Paraná.

Abstract

Two outbreaks and one isolated case of Australian stringhalt are reported in horses in southern Brazil in paddocks invaded by *Hypochaeris radicata*. The disease was reproduced experimentally in one colt that ingested a daily mean of 9.8 kg of fresh *H. radicata* during 50 days. First clinical signs were observed 19 days after the start of the experiment when the animal was ingesting *H. radicata* collected in the paddock where the disease occurred and in an adjacent paddock. After day 22 the animal was fed during one week with *H. radicata* collected in paddocks from another farm, and recovered. On day 23 the colt had no clinical signs and returned to consume *H. radicata* collected on the paddock where the disease occurred. Mild signs were observed again on day 36, which were increased on day 43 and stayed stable on day 50, when the plant administration was stopped. Fifteen days after the end of the plant consumption the horse was fully recovered. The experimental reproduction of similar clinical signs in one colt fed with large amounts of *H. radicata* demonstrated that the disease is caused by this plant.

KEY WORDS: Australian stringhalt, *Hypochaeris radicata*, horses, distal axonopathy.

Stringhalt (high stepping with hyperflexion of the hind limb) is an ancient disease of horses first reported by Kendall in 1884 in Australia (Huntington *et al.*, 1991; Slocombe *et al.*, 1992). In Australia (Huntington *et al.*, 1989), New Zealand (Cahill *et al.*, 1985)

³ Corresponding author. Tel. : +558334233409; fax: +558334214659.
Email address: franklin.riet@pq.cnpq.br (Franklin Riet-Correa)

and USA (Galey *et al.*, 1991; Gay *et al.*, 1993; Gardner *et al.*, 2005) stringhalt has been associated with the ingestion of *Hypochoeris radicata*. The disease is reported also in Chile, but not associated with *H. radicata* (Araya *et al.*, 1998). In Brazil was reported from the states of Rio Grande do Sul (Rodrigues *et al.*, 2008) and Paraná (Ricardo Larrosa and Joaquin de Alda, 2006, unpublished data). In Rio Grande do Sul, *H. radicata* was observed in the pastures of three out of five farms where the disease occurred (Rodrigues *et al.*, 2008). The illness occurs mainly in late summer and autumn, generally in horses on poor quality pastures and has been also associated with other plants, including *Taraxacum officinal* and *Malva parviflora* (Huntington *et al.*, 1989; Cahill and Goulden, 1992; Araya *et al.*, 1998). Clinical signs are characterized by abnormal gait with involuntary hyperflexion of the hock of one or both hind limbs. In some horses the hyperflexion is so marked that the abdomen is kicked when walking. Affected horses have difficulty in stepping backward or circling; ambulation is impaired, and some animals show a bunny hop-type of gait (Cahill and Goulden, 1992; Araya *et al.*, 1998; Rodrigues *et al.*, 2008). Left laryngeal hemiplegia (roaring) can be associated with stringhalt. Muscular atrophy is also observed in the hind limbs (Slocombe *et al.*, 1992; Cahill *et al.*, 1986). Involvement of the forelimbs is also seen occasionally, taking the form of stumbling, toes cuffing, and knuckling at the carpus (Cahill and Goulden, 1992). The disease is a distal axonopathy characterized histologically by axonal degeneration in peripheral nerves and muscular neurogenic atrophy (Cahill *et al.*, 1986; Slocombe *et al.*, 1992; Rodrigues *et al.*, 2008). Ultrastructural findings include demyelination, regeneration and remyelination of peripheral nerves (Rodrigues *et al.*, 2008). When moved from the pastures most animals recover without treatment in variable periods, which can be of few weeks to a year or more (Pemberton & Caple, 1980; Galey *et al.*, 1991; Cahill and Goulden, 1992; Rodrigues *et al.*, 2008).

The disease associated with *H. radicata* or other plants, named Australian stringhalt, is different from classical stringhalt. Australian stringhalt is more severe, usually bilateral, occurs in outbreaks, is seasonal, and most animals recover spontaneously. Classical stringhalt is a sporadic disease of unknown cause that has to be treated surgically because there is no spontaneous recovery (Cahill & Goulden 1992).

The aims of this paper are to report outbreaks of stringhalt in horses in the state of Paraná, in a region near the city of Curitiba, southern Brazil, and the experimental production of the disease in one horse by feeding *Hypochoeris radicata*.

One outbreak of the disease occurred in a farm, in May 2004, during the dry season, affecting 4 out of 29 thoroughbred mares. The mares were grazing during the day in a paddock of *Digitaria decumbens* and *Lolium multiflorum* severely invaded by *H. radicata* (Fig. 1). *Taraxacum officinale* was also found in the pasture in fewer amounts. At night the mares were kept indoors and supplemented with concentrated food. Three mares recovered spontaneously in 2-3 months, and the other in nearly 7 months. In the same farm another mare was affected in January 2007, also during the dry season. Seven month after first clinical signs the mare stills with severe clinical signs. Hyperflexion of the hind limbs were so marked that the mare kicked its abdomen when walking (Fig. 2). At the end of flexion, the hoof was held flexioned for a moment and then stamped hard on the ground.

Also in January 2007, in another farm in the same region, two, two-years-old thoroughbred colts were affected. Both animals were introduced, approximately one month before, in a two hectares paddock with a pasture of *Lolium multiflorum* and native grasses, severely invaded by *H. radicata*. The colts were also supplemented with oat grain. Both animals were severely affected when moved from the pastures. In June 2007 one colt had no signs of stringhalt, but had atrophy of the muscles of the thigh, mainly the gastronemious. This colt was apparently fully recovered in September 2007, but after a short period of training showed laryngeal dysfunction (roaring). Laryngeal hemiplegia was diagnosed by endoscopy, and the colt was culled. The other colt was submitted to lateral digital extensor muscle tenectomy, but did not recovered and was culled in October 2007.

For the experimental reproduction of the disease *H. radicata* was fed to a six-months-old crossbred colt (thoroughbred x Brazilian crioulo). The experiment was performed in the second farm where the disease occurs. The plant was collected in the paddock where the disease occurs and in an adjacent paddock (Paddocks 1 and 2, respectively). Occasionally the plant was also collected from other paddocks in the same farm (first week) or from paddocks in another farm (fourth week). The plant collected in the farm was given *ad libitum* immediately after collection. The plant collected in another farm was administered 1-2 days after collection. The experiment started on July 22, and the animal ingested a mean daily amount of 9.8 kg of fresh *H. radicata* during 50 days. The colt also received, daily, 1-2 kg of alfalfa hay, and 390g of oat grain.

The experimental horse was submitted to a complete examination of the nervous system once a week, and also on day 19th when it showed the first clinical signs. Blood was also collected once a week for the determination of serum concentrations of urea and creatinine, and serum activities of aspartate-aminotransferase, (ALT), aspartate-alaninotransferase (AST), gama-glutamyltransferase (GGT), and alkaline phosphatase (FA). Feces were also collected for parasitological analysis. All analysis were performed in a private laboratory (Laboratório de Análises Clínicas – LANAC) in the city of Curitiba. The source of the plant consumed in each experimental week, and the presence of clinical signs are in Table 1.

First clinical signs, characterized by reluctance to stepping backward or circling, hypermetria, and abduction of the hind limbs were observed on day 19th. On clinical examination on day 22, the signs were more marked and the animal showed a bunny-hopping gait when forced to run. During circling one pelvic limb contact the other. The animal dragged the anterior surface of the toes of the hind limbs during gait and when walking in an inclined surface the hind limbs were abducted. Weakness of the hind limbs was evident when the horse was pulled from the tail. No alterations were found in the central nervous system examination, but the panniculus reflex was apparently diminished. When running free in the paddock showed stringhalt of the hind limbs and a bunny-hopping type of gait. After the examination on day 22 the animal was fed during one week with *H. radicata* collected in paddocks from another farm, and recovered. On day 23 the colt had no clinical signs and returned to consume *H radicata* collected on Paddock 1. Mild signs were observed again on day 36, which were increased on day 43 and stay stable on day 50 when the plant administration was stopped (Table 1). Fifteen days after the end of the plant consumption the horse was fully recovered. No alterations were observed in serum activities of AST, ALT and FA, and in serum concentrations of creatinine, but serum levels of urea were slightly increased (53-59 mg/dL) on days 8, 15, 36, and 43. On days 22, 29 e 50 they were within normal values.

The disease reported here is similar than Australian stringhalt reported in other countries and also in Brazil (Huntington *et al.*, 1989; Cahill *et al.*, 1985; Galey *et al.*, 1991; Araya *et al.*, 1998; Rodrigues *et al.*, 2008). The experimental reproduction of similar clinical signs in one colt fed with large amounts of *H. radicata* demonstrated that the disease is caused by this plant. Previous reports associated Australian stringhalt with the presence of *H. radicata* in the pastures (Pemberton and Caple, 1980; Cahill *et al.*, 1985; Huntington, *et al.*, 1989; Gardner, *et al.*, 2005), but attempts to reproduce the

disease by feeding pasture material on which affected horses have grazed, had not been successful (Cahill and Goulden, 1992). The regression of clinical signs when the experimental animal was fed with plant from another farm, and the recurrence of signs after restart feeding the plant from the original farm, suggest that there are variations in the toxicity of *H. radicata*. These variations can be responsible from the failures to reproduce the disease.

All cases reported in this paper occurred during summer or autumn in pastures severely invaded by *H. radicata*, but the disease was reproduced in winter during the raining period, suggesting that the intoxication can occurs in different times of the year. The higher frequency of the disease during summer and autumn is probably associated with shortage of forage, as it occurs in other countries (Pemberton and Caple, 1980; Huntington *et al.*, 1989; Cahill and Goulden, 1992; Rodrigues *et al.*, 2008).

Aknowledgements

This work was financially supported by Institutos do Milênio, National Council of Scientific and Technologic Development (CNPq), grant N° 420012/2005-2 and by the Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX), grant N° 001/04, CNPq, FAPESQ, MCT.

References

- Araya, O., Krause, A., Solis de Ovando, M. 1998. Outbreaks of stringhalt in Southern Chile. *Vet. Rec.* 142, 462-463.
- Cahill, J.I., Goulden, B.E., 1992. Stringhalt – current thoughts on aetiology and pathogenesis. *Equine Vet. J.* 24, 161-162.
- Cahill, J.I., Goulden, B.E., Pearce, H.G., 1985. A review and some observations on stringhalt. *N. Z. Vet. J.* 33, 101-104.
- Cahill, J.I., Goulden, B.E., Jolly, R.D. 1986. Stringhalt in horses: a distal axonopathy. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 12, 459-475.
- Galey, F.D., Hullinger, P.J., McCaskill, J., 1991. Outbreaks of stringhalt in Northern California. *Vet. Hum. Toxicol.* 33, 176-177.
- Gardner, S.Y., Cook, A.G., Jortner, B.S., Troan, B.V., Sharp, N.J.H., Campbell, N.B., Brownie, C.F., 2005. Stringhalt associated with a pasture infested with *Hypochaeris radicata*. *Eq. Vet. Ed.* 7, 154-158.
- Gay, C.C., Fransen, S., Richards, J., Holler S., 1993. *Hypochaeris*-associated stringhalt in North America. *Eq. Vet. J.* 25, 456-457.

- Huntington, P.J., Jeffcott, L.B., Friend, S.C.E., Luff, A.R., Finkelstein, D.I., Flynn R.J., 1989. Australian stringhalt - epidemiological, clinical and neurological investigations. *Eq. Vet. J.* 21, 266-273.
- Huntington, P.J., Seneque, S., Slocombe, R.E, Jeffcott, L.B., McLean, A., Luff, A.R., 1991. Use of phenytoin to treat horses with Australian stringhalt. *Aust. Vet. J.* 68, 221-224.
- Pemberton, O.H., Caple, I. W., 1980. Australian stringhalt in horses. *Vet. Ann.* 20, 167-171.
- Rodrigues, A., De La Corte, F.D., Graça, D.L., Rissi, D.R., Schild, A.L., Kommers, G.D., Barros, C.S.L., 2007. Harpejamento em equinos no Rio Grande do Sul. *Pes. Vet. Bras.* 48, 23-28.
- Slocombe, R.E, Huntington, P.J., Friend, S.C.E., Jeffcott, L.B., Luff, A.R., Finkelstein, O.K., 1992. Pathological aspects of Australian stringhalt. *Eq. Vet. J.* 24, 174-183.

Table 1

Experimental feeding of *Hyochoaeris radicata* to a horse. Paddocks of plant collection, administration period, day of clinical examination and presence of clinical signs.

Paddock (s) of plant collection	Period of administration (days)	Clinical examination (day)	Presence of clinical signs
Other paddocks of the farm	1-8	8 th	Absent
Paddock 1*	9-15	15 th	Absent
Paddock 2	16-22	19 th	Start of clinical signs
Paddock 2	16-22	22 nd	Present
Paddocks from another farm	23-29	29 th	Absent
Paddock 1	30-36	36 th	Present
Paddock 1	37-42	43 rd	Present
Paddock 1	43-50	50 th	Present

*Spontaneous cases occurred in Paddock 1; Paddock 2 was adjacent to Paddock 1.

Figures legends

Fig. 1. *Hyochoaeris radicata*, Municipality of Tijucas do Sul, Paraná. Insert: flowers and fruiting heads of the plant.

Fig. 2. Mare with severe stringhalt. The left hind limb is kicking the abdomen when walking.

CONCLUSÕES

- *Ipomoea asarifolia* é mais tóxica durante a época seca que durante a época de chuvas.
- Os ovinos são mais susceptíveis à intoxicação do que os caprinos.
- Não há diferença de susceptibilidade entre ovinos jovens e ovinos adultos.
- Em ovinos, o princípio ativo de *I. asarifolia* não é eliminado pelo leite em doses tóxicas para os cordeiros.
- A intoxicação por *I. asarifolia* causa, ultra-estruturalmente, alterações parcialmente reversíveis dos dentritos das células de Purkinje.
- Os surtos de harpejamento que ocorrem em eqüinos no Paraná é causado por *Hypochoeris radicata*.

ANEXO II

Instruções aos autores da Pesquisa
Veterinária Brasileira

ANEXO III

Instruções aos autores da TOXICON