

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO MESTRADO

***Enterolobium contortisiliquum* É UMA CAUSA DE
ACIDOSE RUMINAL AGUDA EM OVINOS**

Rayane Chitolina Pupin

**CAMPO GRANDE, MS
2017**

2017		<i>Enterolobium contortisiliquum</i> É UMA CAUSA DE ACIDOSE RUMINAL AGUDA EM OVINOS		PUPIN
------	--	--	--	-------

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

***Enterolobium contortisiliquum* É UMA CAUSA DE
ACIDOSE RUMINAL AGUDA EM OVINOS**

Enterolobium contortisiliquum IS A CAUSE OF ACUTE RUMINAL
ACIDOSIS IN SHEEP

Rayane Chitolina Pupin

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Antônio Amaral de Lemos

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Saúde Animal

CAMPO GRANDE, MS, 2017

Dedico aos meus pais Osmar e Elizete,
por todo o apoio e suporte que me deram
para que eu pudesse me dedicar de forma integral
à pós-graduação e ao desenvolvimentos dessas atividades.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus e a Nossa Senhora do Perpétuo Socorro por toda a força, motivação e disposição que me concederam para que eu pudesse realizar esse trabalho.

Aos meus pais, Osmar Pupin e Elizete Lourdes Chitolina, por todo o apoio, por toda a dedicação e por todo o trabalho que sempre tiveram para que eu pudesse me dedicar, exclusivamente, a minha formação profissional.

Ao professor Ricardo Antônio Amaral de Lemos pela orientação, por todos os ensinamentos e também pelo exemplo que é.

Aos professores Danilo Carloto Gomes e Tessie Beck Martins por todos os ensinamentos passados.

As minhas amigas e colegas de trabalho – Paula Velozo Leal, Stephanie Carrelo de Lima, Gleice Kelli Ayardes de Melo, Juliana Paniago Lordello de Paula, Nickolly Lilge Kowski de Sá Ribas – que fazem com que os dias de trabalho e estudo sejam muito mais divertidos, tornando os desafios mais fáceis de serem superados.

A todos da minha família e todos os amigos que de uma forma ou de outra colaboraram para que esse processo chegasse ao fim.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu,
mas pensar o que ninguém ainda pensou
sobre aquilo que todo mundo vê.”
(Arthur Schopenhauer)

Resumo

PUPIN, R.C. *Enterolobium contortisiliquum* é uma causa de acidose ruminal aguda em ovinos. 2017. 43 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2017.

A ingestão de frutos de *Enterolobium contortisiliquum* é associada a sinais clínicos de distúrbios digestivos, fotossensibilização e aborto em ruminantes domésticos. Esse experimento foi realizado com o objetivo de testar a hipótese de que os sinais digestivos nessa intoxicação estão relacionados à acidose ruminal aguda. Foram utilizadas sete ovelhas sem raça definida (SRD), com peso corporal entre 30 e 40 kg, cinco delas prenhes entre 3º e 4º mês de gestação. O experimento foi realizado em duas fases: na fase I, administraram-se doses diárias entre 5 e 15g/kg de peso vivo (PV) por um a dez dias consecutivos; na fase II, doses de 10 e 15g/kg PV por um a dez dias. Três ovelhas desenvolveram sinais de acidose e clinicamente havia apatia, prostração, tempo prolongado em decúbito, salivação, diarreia e conteúdo ruminal líquido e espumoso. Uma ovelha recuperou-se após tratamento com bicarbonato de sódio, reforçando a ocorrência de acidose ruminal. As outras duas ovelhas morreram. Nessas duas, os valores de lactato sanguíneo foram 18 mg/dL e 196.88 mg/dL, indicando a ocorrência de acidose metabólica, além da morte por choque hipovolêmico. Achados de necropsia incluíram acentuação do padrão lobular do fígado e múltiplas áreas vermelhas e extensas na mucosa do rúmen. Histopatologicamente, o epitélio da mucosa do rúmen e do retículo estava tumefeito, vacuolizado e com pústulas intraepiteliais. Ulceração focal da mucosa ruminal foi observada em uma ovelha. No fígado, degeneração vacuolar multifocal dos hepatócitos e necrose individual de hepatócitos foram observadas. Adicionalmente, quatro ovelhas apresentaram elevações nos níveis séricos de aspartato aminotransferase e gamaglutamil transferase, indicando que a planta também possui efeitos hepatotóxicos. Ingestão repetida de doses subletais induziu tolerância e não induziu efeitos acumulativos. Concluiu-se que a principal manifestação clínica da intoxicação por *E. contortisiliquum* em ovinos foi a acidose ruminal aguda e a acidose metabólica. Ingestão repetida de doses subletais pode estimular a proliferação da flora ruminal que degrada o açúcar presente nos frutos e assim previne a acidose. A planta também é hepatotóxica e não foram observados casos de aborto.

Palavras-chave: planta tóxica, *Enterolobium contortisiliquum*, acidose láctica, hepatotoxicidade

Abstract

PUPIN, R.C. *Enterolobium contortisiliquum* is a cause of acute ruminal acidosis in sheep. 2017. 43 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2017.

The ingestion of pods of *Enterolobium contortisiliquum* is associated with digestive disturbances, photosensitivity and abortion in domestic ruminants. This experiment was designed to test the hypothesis that digestive disturbances in this toxicosis are really caused by acute ruminal acidosis. Seven adult, mixed breed ewes between 30 – 40 kilograms were used and five of them were pregnant. The experiment was done in two phases: at phase I, the ewes received daily doses between 5 – 15 g/kg BW during one until ten consecutive days; at phase II, daily doses between 10 – 15 g/kg BW during one – ten consecutive days. Three sheep developed ruminal acidosis and the clinical signs were apathy, prostration, prolonged recumbence, drooling, diarrhea and foamy and/or yellowish content. One of these was treated with sodium bicarbonate and recovered, providing additional evidence of the involvement of ruminal acidosis in the pathogenesis of toxicosis. The other two sheep died. In these, the values of blood lactate were 18 mg/dL and 196.88 mg/dL, indicating metabolic acidosis beyond death by hypovolemic shock. Necropsy findings included the accentuation of the hepatic lobular pattern and multiple focally extensive red areas in the rumen mucosa. Histopathologically, the epithelial mucosa of the rumen and reticulum exhibited swollen and vacuolated epithelia with intraepithelial pustules. Focal ulceration of the ruminal mucosa was also observed. Multifocal vacuolar degeneration of hepatocytes and scattered individual hepatocellular necrosis were evident in the liver. Additionally, four sheep developed elevated serum levels of aspartate aminotransferase and gamma glutamyl transferase, indicating that the pods had hepatotoxic effects. Repeated ingestion of small doses induced tolerance but did not induce cumulative effects. We concluded that the main clinical manifestation of intoxication by *E. contortisiliquum* pods in sheep was acute ruminal lactic acidosis and metabolic acidosis. Ingestion of repeated sublethal doses could stimulate proliferation of the ruminal fauna that degrades the sugar present in the pods, and thereby prevent the occurrence of ruminal acidosis. The plant is also hepatotoxic, and no abortions were observed.

Keywords: poisonous plants, *Enterolobium contortisiliquum*, lactic acidosis, hepatotoxicity

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Aspectos Gerais	2
2.2 Surto de intoxicação natural	2
2.3 Reprodução Experimental	3
2.4 Achados de necropsia e histopatológicos	5
2.5 Princípio Tóxico	6
2.6 Acidose ruminal láctica aguda (ARLA)	7
3. REFERÊNCIAS	10
<i>Enterolobium contortisiliquum</i> É UMA CAUSA DE ACIDOSE RUMINAL AGUDA EM OVINOS	14
Introdução	17
Materiais e Métodos.....	18
Resultados.....	20
Discussão	21
Conclusão.....	23
Agradecimentos	23
Referências	23
Tabela 1 – Delineamento experimental e evolução clínico-patológica das ovelhas que receberam frutos de <i>E. contortisiliquum</i>	27
Figura 1 – <i>E. contortisiliquum</i> é uma causa de acidose ruminal em ovinos. Níveis de aspartato aminotransferase (AST) em 6 ovelhas do experimento. .	28
Figura 2 – <i>E. contortisiliquum</i> como causa de acidose ruminal em ovinos. Níveis de gama glutamiltransferase (GGT) em 6 ovelhas do experimento.....	29

1. INTRODUÇÃO

As intoxicações por plantas causam perdas econômicas diretas e indiretas sobre o rebanho brasileiro (Rissi et al. 2007), sendo consideradas como diretas a morte dos animais, que no Brasil estima-se que seja de um milhão de bovinos por ano (Riet-Correa et al. 2011), queda na produção (carne, leite, lã), perdas reprodutivas (abortos, malformações, infertilidade) e a ocorrência de doenças intercorrentes. As indiretas consistem dos custos com diagnóstico e tratamento dos doentes e para implementação de medidas de profilaxia (Riet-Correa & Méndez 1993). Dessa forma, o real prejuízo causado pelas plantas tóxicas é de difícil estimativa devido à escassez de dados, principalmente em relação aos abortos e as perdas indiretas (Pessoa et al. 2013).

O crescente impacto negativo que as plantas tóxicas têm causado na pecuária justifica o grande número de pesquisas para caracterizar a epidemiologia e também para desenvolver tecnologias para a profilaxia e o controle dessas intoxicações (Pessoa et al. 2013).

Uma das plantas comumente descrita como tóxica, principalmente para bovinos, é o *Enterolobium contortisiliquum*, uma leguminosa associada a quadros digestivos, fotossensibilização hepatógena e abortos (Silva et al. 2006, Assis et al. 2009, Mello et al. 2010, Bezerra et al. 2012, Souza et al. 2015).

Levantou-se a hipótese de que os sinais clínicos de distúrbios digestivos associados à intoxicação por essa leguminosa sejam decorrentes da acidose ruminal láctica aguda causada pelo alto teor de carboidratos fermentáveis presentes nesses frutos.

Os objetivos do presente estudo foram: (1) comprovar que administração intrarruminal dos frutos de *E. contortisiliquum* pode causar acidose ruminal láctica aguda; (2) avaliar se os frutos possuem ação hepatotóxica através da avaliação dos níveis séricos de enzimas indicadoras da função hepática; (3) avaliar se a administração intrarruminal dos frutos a ovelhas prenhes pode causar abortos; (4) avaliar se a administração intrarruminal dos frutos podem causar fotossensibilização hepatógena; (5) avaliar se há desenvolvimento de tolerância à intoxicação após a ingestão consecutiva de doses subletais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos Gerais

Enterolobium contortisiliquum é uma leguminosa da família Mimosoideae, popularmente conhecida como tamboril, orelha de macaco, timbaúba, timbó, entre outros nomes (Costa et al. 2009). É amplamente distribuída no Brasil, estendendo-se do Pará ao Rio Grande do Sul, e também ocorre no Uruguai, Venezuela e Argentina (Matos et al. 2011).

É uma árvore de grande porte que pode atingir entre 25 e 30 metros de altura e espessura do tronco de 80 a 160 cm de diâmetro. A florescência ocorre entre os meses de setembro e novembro, e a maturação dos frutos entre junho e julho, sendo que estes permanecem na árvore por mais alguns meses (Lorenzi 1992, Costa et al. 2009, Riet-Correa et al. 2011). Por ser uma árvore que proporciona amplo sombreamento ela tem sido bastante utilizada em áreas de reflorestamento, muitas vezes associada à pastagem (Lorenzi 1992, Costa et al. 2009). A madeira pode ser utilizada para a fabricação de brinquedos, compensados, móveis, barcos e canoas (Lorenzi 1992).

A planta está associada à casos de intoxicação sobretudo em bovinos (Riet-Correa et al. 2012) e, por isso, o plantio em áreas de pastejo de animais deve ser evitado ou deve-se fazer adequação no manejo durante a época de queda das favas (Costa et al. 2009).

2.2 Surtos de intoxicação natural

Na região Centro-Oeste a ocorrência de surtos naturais de intoxicação pela planta é comumente descrita nos meses da seca (Mendonça et al. 2009, Schons 2011, Souza et al. 2015). A baixa disponibilidade de forragem nessa época coincide com a queda dos frutos maduros no solo, aumentando a probabilidade de ingestão dessas pelos bovinos (Costa et al. 2009, Matos et al. 2011), que pode ocorrer com bastante avidez (Sant'ana et al. 2014). No entanto, no Nordeste, há descrição de um surto no mês de fevereiro, no início da época das chuvas (Olinda et al. 2015), e em outro surto relatou-se que mesmo após a melhora na disponibilidade de forragem os bovinos continuaram a procurar as favas (Costa et al. 2009).

Em levantamentos realizados em diversos estados do país, a intoxicação é descrita como responsável por quadros digestivos caracterizados por diarreia, aborto

e fotossensibilização hepatógena, sobretudo em bovinos (Silva et al. 2006, Assis et al. 2009, Mello et al. 2010, Schons 2011, Bezerra et al. 2012, Sant'ana et al. 2014). Há descrições por parte de produtores da ocorrência de aborto em cabras (Assis et al. 2009) e de casos de fotossensibilização em ovinos (Bezerra et al. 2012).

Os dados referentes à morbidade, mortalidade e ocorrência de abortos estão relacionados aos surtos de bovinos que é a espécie em que são relatados a maioria dos casos. Na maioria dos surtos, os índices de morbidade descritos variam de 2,06% a 25% (Tokarnia et al. 1999, Grecco et al. 2002, Costa et al. 2009, Mendonça et al. 2009, Olinda et al. 2015, Souza et al. 2015), entretanto há relatos de índices maiores podendo atingir até mesmo 100% do rebanho (Tokarnia et al. 1999, Grecco et al. 2002), enquanto a mortalidade é de 1,2% a 5,3% (Tokarnia et al. 1999, Grecco et al. 2002, Mendonça et al. 2009, Olinda et al. 2015). Nos surtos em que são descritos abortos, a ocorrência desses é observada em 4% a 7,1% das vacas (Tokarnia et al. 1999, Grecco et al. 2002).

Clinicamente, descreve-se em bovinos, apatia, diarreia esverdeada, desidratação, anorexia e perda de peso. Por vezes há icterícia e lesões de fotodermatite sobretudo nas áreas de pele despigmentada como períneo e vulva (Grecco et al. 2002, Mendonça et al. 2009, Olinda et al. 2015) e também nas orelhas, cauda, lateral do tórax e abdômen e úbere (Grecco et al. 2002, Costa et al. 2009). Essas lesões caracterizam-se inicialmente por edema, espessamento e perda da elasticidade da pele, que evoluem para desprendimento da epiderme, com erosões e ulcerações (Olinda et al. 2015). Em bovinos com fotossensibilização observa-se também inquietação, procura por sombra e constante movimento da cabeça e da cauda (Purisco & Lemos 2008, Costa et al. 2009).

Bezerra et al. (2012) descreveram e acompanharam a intoxicação em ovinos, que neste caso cursou com fotossensibilização. O animal apresentava edema na cabeça e nas orelhas, dermatite na orelha e no lábio superior, dispneia devido a obstrução parcial causada pelo edema nas narinas, lacrimejamento bilateral, vocalização frequente e fotofobia.

2.3 Reprodução Experimental

Tentativas de reproduzir experimentalmente o quadro de intoxicação foram realizadas em diversas espécies animais incluindo bovinos (Tokarnia et al. 1999, Grecco et al. 2002, Mendonça et al. 2009, Schons 2011, Tokarnia et al. 2012),

caprinos (Dias et al. 2011), ovinos (Bacha 2012, Bacha et al. 2016) e cobaias (Bonel-Raposo et al. 2008). Apesar das favas normalmente serem coletadas durante surtos de intoxicação em bovinos, muitos dos quais cursam com fotossensibilização e aborto, a primeira manifestação foi reproduzida em poucos casos (Grecco et al. 2002, Schons 2011), e a segunda apenas nas cobaias (Bonel-Raposo et al. 2008) apesar da administração de frutos a fêmeas gestantes em quatro estudos (Tokarnia et al 1999, Bonel-Raposo et al. 2008, Schons 2011, Bacha 2012).

Nos bovinos, dose única de 2,5g/kg PV de frutos inteiros causou diarreia e diminuição do apetite já no mesmo dia da administração (Tokarnia et al. 1999). Frutos inteiros fornecidos em doses únicas de 5g/kg PV, 9g/kg PV e 12g/kg PV, determinaram o aparecimento de sinais clínicos. No animal que ingeriu a menor dose houve apenas anorexia e diarreia leve. Nos outros dois, além dessas manifestações, que foram mais intensas, havia também icterícia, desidratação, hipotonia ruminal e tempo prolongado em decúbito. A ingestão dessas doses citadas não causou fotodermatite em nenhum animal e todos se recuperaram (Mendonça et al. 2009). Doses únicas de 12,5g/kg PV e 15g/kg PV administradas moídas através de sonda orogástrica causaram sinais semelhantes aos descritos por Mendonça et al. (2009) e morte (Schons 2011, Tokarnia et al. 2012). Dose única de 8g/kg PV administrada por sonda orogástrica causou incoordenação, decúbito prolongado, emagrecimento, icterícia e morte de um bovino; e duas doses de 4g/kg PV também administradas por sonda orogástrica causaram fotossensibilização em um bovino 11 dias após a manifestação de sinais clínicos digestivos, mas não determinaram sinais numa vaca prenhe (Schons 2011). Doses únicas de 5g/kg PV e 10g/kg PV administradas por via oral também causaram leve fotossensibilização após recuperação da fase aguda caracterizada por anorexia, depressão e atonia ruminal; outro bovino que ingeriu uma dose de 10g/kg PV e um que recebeu 20g/kg PV, ambas por via oral, morreram dentro de 26 horas (Grecco et al. 2002).

Nos caprinos, sinais clínicos foram descritos em dois animais que receberam, via oral forçada, doses únicas de 10g/kg de peso vivo (PV) das favas moídas, e incluíram apatia, sialorreia, diarreia severa, timpanismo, taquicardia e taquipneia. Um animal recuperou-se e o outro morreu. Doses únicas de 2,5g/kg PV e 5g/kg PV de favas moídas não causaram sinais clínicos (Dias et al. 2011).

Em ovinos, Bacha (2012) administrou frutos moídos, por via oral, a ovelhas prenhes em terço médio e final de gestação. Não ocorreram manifestações clínicas

de fotossensibilização e nem aborto. Animais que ingeriram doses diárias de 1 e 2g/kg PV apresentaram sinais clínicos leves de distúrbios digestivos (apatia, fezes pastosas a diarreicas, inapetência, distensão abdominal) e se recuperaram; nas ovelhas que ingeriram doses diárias de 2,25g/kg PV, 2,5 g/kg PV, 3g/kg PV e 5g/kg PV ocorreu intoxicação aguda e morte após um a três dias de administração. Posteriormente, foram administradas doses crescentes às ovelhas e seus cordeiros, e ocorreram sinais clínicos leves, semelhantes aos já descritos, com recuperação. Em outro experimento com ovinos, Bacha et al. (2016) administraram frutos picados manualmente foram administrados por via intrarruminal, nas doses de 10g/kg PV por um a três dias, e induziram sinais clínicos de distúrbios digestivos semelhantes aos já descritos nessa espécie, além de atonia ruminal, conteúdo ruminal líquido e espumoso e taquipneia. Esses sinais são característicos de acidose ruminal láctica aguda, o que foi comprovado pela queda do pH do rúmen e pelas lesões macro e microscópicas.

2.4 Achados de necropsia e histopatológicos

Nos bovinos, quando há manifestação clínica de fotossensibilização observam-se lesões de pele e edema no subcutâneo. Há também icterícia, fígado amarelado, com padrão lobular evidenciado, e que pode conter pontilhados esbranquiçados, e distensão da vesícula biliar (Grecco et al. 2002, Purisco & Lemos 2008, Mendonça et al. 2009). Há descrições de hemorragias no abomaso, ampola retal distendida por abundante quantidade de fezes recobertas por muco (Mendonça et al. 2009), além de rins aumentados e edema perirrenal (Olinda et al. 2015).

Histopatologicamente, as lesões hepáticas variam de tumefação e vacuolização dos hepatócitos até necrose de coagulação centrolobular, colestase e pericolangite (Grecco et al. 2002, Purisco & Lemos 2008, Mendonça et al. 2009, Tokarnia et al. 2012, Olinda et al. 2015). No abomaso pode haver ulceração da mucosa, hemorragias e edema na submucosa e nos rins são descritas necrose de células epiteliais e formação de cilindros intratubulares (Grecco et al. 2002, Mendonça et al. 2009, Olinda et al. 2015). No rúmen, retículo e esôfago são observadas pústulas e vesículas intraepiteliais preenchidas por neutrófilos (Grecco et al. 2002). As lesões de pele são caracterizadas por extensas áreas de necrose da epiderme com neutrófilos degenerados, fibrina e agregados bacterianos; pústulas subepidérmicas com áreas de hemorragia, moderada reação desmoplásica e infiltrado de macrófagos, neutrófilos e eosinófilos (Olinda et al. 2015).

Em caprinos, observa-se na necropsia marcado timpanismo e na histopatologia lesões de degeneração intracelular no epitélio ruminal, com formação de vesículas e pústulas, além de discreta degeneração no retículo. No fígado, moderada degeneração centrolobular (Dias et al. 2011).

Os achados de necropsia nas reproduções experimentais em ovinos caracterizaram-se por hiperemia da traqueia, fígado com áreas claras intercaladas com áreas escuras e padrão lobular evidenciado, mucosa abomasal avermelhada e áreas vermelho escuras na mucosa do intestino. No rúmen, conteúdo alaranjado, líquido e espumoso, com fragmentos de frutos picados e no ceco, conteúdo líquido. Histopatologicamente, os principais achados são, no rúmen e omaso, destacamento da mucosa e degeneração balonosa, com formação de pústulas intraepiteliais preenchidas por neutrófilos e debris celulares; no fígado, tumefação e formação de vacúolos bem delimitados no citoplasma dos hepatócitos, além de necrose individual de hepatócitos; e nos rins focos de necrose de coagulação e tumefação do epitélio tubular (Bacha 2012, Bacha et al. 2016). Em um caso natural os achados foram apenas fígado amarelado com padrão evidenciado, e sementes de *E. contortisiliquum* no rúmen; na histopatologia, formação de vacúolos nos hepatócitos centrolobulares e necrose individual aleatória (Bezerra et al. 2012).

2.5 Princípio Tóxico

O princípio tóxico do *E. contortisiliquum* ainda é desconhecido (Santos et al. 2008) e numerosas substâncias têm sido identificadas nos frutos e sementes. Os frutos possuem altos teores de saponinas triterpênicas (Matos et al. 2011).

As saponinas são substâncias formadas por uma ou mais moléculas de açúcar ligados a uma aglicona hidrofóbica (sapogenina) que pode ser triterpênica ou esteroidal. Podem ser modesmosídicas, quando há uma cadeia de açúcar ligada à aglicona, ou bidesmosídicas, quando há uma molécula adicional. As triterpênicas são encontradas, principalmente, em dicotiledôneas e são consideradas como parte do sistema de defesa das plantas, possuindo funções de inibir o crescimento do bolor, o ataque de insetos e ação antimicrobiana. Possuem esse nome devido a capacidade de formar espuma estável quando em solução aquosa (Francis et al. 2002, Hostettman & Marston 2005, Wina et al. 2005).

Primeiramente, foram isoladas duas novas saponinas triterpênicas bidesmosídicas que foram chamadas enterolosaponinas A e B, e a primeira mostrou

alta citotoxicidade sobre macrófagos de ratos (Mimaki et al. 2003). Posteriormente, foram descritas outras sete saponinas triterpênicas bidesmosídicas que receberam o nome de contortisiloides A – G, e que tiveram suas ações citotóxicas testadas sobre macrófagos, linfócitos e fibroblastos de ratos. Os contortisiloides A e C foram moderadamente citotóxicos, o tipo B teve citotoxicidade seletiva sobre os macrófagos e os tipos D, E, F e G não apresentaram citotoxicidade (Mimaki et al. 2004).

Outra substância já identificada é a enterolobina, uma proteína com ações hemolítica, citolítica e potente ação inflamatória (Castro-Faria-Neto et al. 1991, Matos et al. 2011) induzindo a formação de edema e com alta quimiotaxia para neutrófilos e eosinófilos. A formação do edema envolve aumento na permeabilidade vascular e, talvez a participação dos derivados do ácido araquidônico que se originam pela via com ação da lipoxigenase (Castro-Faria-Neto et al. 1991).

Também já foi identificado um inibidor de proteinases que atua sobre tripsina e quimotripsina, e que possui significativo efeito tóxico sobre células tumorais humanas de origem colorretal, mamária e leucêmica, sem afetar a proliferação dos fibroblastos, sugerindo que esse componente seria uma alternativa nas terapias antitumorais por não afetar a capacidade regenerativa do compartimento de células mesenquimais (Nakahata et al. 2011).

2.6 Acidose ruminal láctica aguda (ARLA)

O compartimento retículo-ruminal é a parte anaeróbica do trato digestivo na qual ocorre a fermentação microbiana e conversão dos substratos fermentáveis em ácidos graxos voláteis (AGVs) (Nagaraja & Titgemeyer 2007) e em lactato (Dijkstra et al. 2012). Os AGVs são posteriormente removidos por absorção através do epitélio ruminal e o lactato é removido através da passagem para o abomaso e neutralização por substâncias tamponantes (Santos 2006, Dijkstra et al. 2012). Enquanto a produção e a eliminação forem equivalentes, o pH ruminal se mantém entre 5,8 e 6,5 (Nagaraja & Titgemeyer 2007).

O pH ruminal é um importante fator sobre a função do órgão pois afeta a população microbiana e os produtos produzidos na fermentação, além de ter efeitos sobre a motilidade e a capacidade absorptiva (Nagaraja & Titgemeyer 2007).

A mudança abrupta na dieta de ruminantes para uma alimentação rica em carboidratos não estruturais (açúcares e amido) é o principal fator envolvido no desenvolvimento de acidose ruminal (Santos 2006, Gelberg 2017). O aumento na

disponibilidade desse substrato culmina com grande produção de ácidos graxos voláteis e, principalmente, de lactato, de forma que os mecanismos de tamponamento podem ser insuficientes e resultar em queda do pH a níveis abaixo de 5,5 (Antunes & Rodriguez 2006, Dijkstra et al. 2012).

Há redução na população de microorganismos celulolíticos, que são intolerantes ao baixo pH ruminal, e aumento dos amilolíticos, principalmente *Streptococcus bovis* que produz abundante quantidade de ácido láctico (Antunes & Rodriguez 2006, Dijkstra et al. 2012). Esse ácido causa queda no pH do rúmen, o que inviabiliza a proliferação de outras bactérias e que permite que os *Lactobacillus* spp. se tornem predominantes quando o pH é igual ou menor que 5,6 (Nagaraja & Lechtenberg 2007, Nagaraja & Titgemeyer 2007). Ocorre também inibição das bactérias *Megasphaera elsdenii* e *Selenomonas ruminantium* que convertem o lactato em butirato e propionato (Antunes & Rodriguez 2006, Nagaraja & Titgemeyer 2007), além da redução na população de protozoários ciliados. Esses protozoários modulam a digestão do amido, pois engolfam as moléculas dessa substância, reduzindo a taxa de fermentação desse (Santos 2006, Nagaraja & Titgemeyer 2007). Com a morte dos protozoários, mais amido fica disponível para fermentação (Santos 2006).

O aumento da osmolaridade ruminal resulta em sequestro de líquido do compartimento intravascular e extracelular dentro do rúmen, causando desidratação e alterações cardiorrespiratórias (taquicardia e taquipneia) (Santos 2006, Jones & Smith 2015).

Os sinais clínicos da acidose usualmente têm início entre 12 e 36 horas após a ingestão do alto teor de carboidratos não estruturais e nos casos hiperagudos pode ocorrer morte em 8 a 16 horas. Há anorexia, letargia, taquicardia e taquipneia, distensão abdominal, atonia ruminal, fezes pastosas a diarreicas, desidratação e decúbito (Nagaraja & Lechtenberg 2007, Almeida et al. 2008, Oliveira et al. 2009, Silva et al. 2009, Jones & Smith 2015). A morte quando ocorre é devido à desidratação e colapso circulatório (Gelberg 2017).

Os achados de necropsia caracterizam-se por conteúdos ruminal e intestinal aquosos e com odor ácido e por vezes pode ocorrer destacamento da mucosa do rúmen. Microscopicamente, há necrose de coagulação das células epiteliais da mucosa com formação de vesículas e pústulas preenchidas por neutrófilos (Gelberg 2017).

Esse estudo foi realizado com o objetivo de avaliar se manifestações clínicas de fotossensibilização hepatógena e abortos em ovelhas podem ocorrer após o controle dos sinais clínicos agudos decorrentes da acidose ruminal láctica aguda causada pelos frutos.

3. REFERÊNCIAS

- Almeida M.Z.P.R.B., Mendonça C.L., Afonso J.A.B., Neto E.G.M. 2008. Estudo clínico, hematológico e bioquímico em caprinos submetidos à acidose láctica ruminal induzida experimentalmente. **Vet. Zootec.**15;100-113.
- Antunes R.C. & Rodriguez N.M. 2006. Metabolismo de carboidratos não estruturais. In: Berchielli T.T., Pires A.V., Oliveira, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Funesp, Jaboticabal, capítulo 8;229-254.
- Assis T.S., Medeiros R.M.T., Araújo J.A.S., Dantas A.F.M., Riet-Correa F. 2009. Intoxicações por plantas em ruminantes e equídeos no Sertão Paraibano. **Pesq. Vet. Bras.** 29;919-924.
- Bacha F.B. 2012. **Intoxicação experimental por *Enterolobium contortisiliquum* em ovinos: caracterização clínica, patológica e efeito da adaptação ao consumo da planta**. Campo Grande: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Dissertação de Mestrado em Ciência Animal, 36p.
- Bacha F.B., Pupin R.C., Leal P.V., Carvalho N.M., Franco G.L., Ítavo C.C.B.F., Riet-Correa F., Lemos R.A.A. 2016. Experimental intoxication by *Enterolobium contortisiliquum* in sheep. **Pesq. Vet. Bras.** (In Press)
- Bezerra C.W.C., Medeiros R.M.T., Rivero B.R.C., Dantas A.F.M., Amaral F.R.C. 2012. Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos na microrregião do Cariri Cearense. **Ciênc. Rural** 42;1070-1076.
- Bonel-Raposo J., Riet-Correa F., Guim T.N., Schuch I.D., Grecco F.B., Fernandes C.G. 2008. Intoxicação aguda e abortos em cobaias pelas favas de *Enterolobium contortisiliquum* (Leg. Mimosoideae). **Pesq. Vet. Bras.** 28;593-596.
- Castro-Faria-Neto H.C., Martins M.A., Bozza P.T., Perez S.A.C., Correa-da-Silva A.C.V., Lima M.C.R., Cruz H.N., Cordeiro R.S.B., Sousa M.V., Morhy L. 1991. Pro-inflammatory activity of enterolobin: a haemolytic protein purified from seeds of the brazilian tree *Enterolobium contortisiliquum*. **Toxicon**, 29(9):1143-1150.
- Costa R.D.L., Marini A., Tanaka D., Berndt A., Andrade F.M.E. 2009. Um caso de intoxicação de bovinos por *Enterolobium contortisiliquum* (timboril) no Brasil. **Arch. Zootec.**, 58(222):313-316.
- Dias A.C.S., Franklin F.L.A.A., Carvalho C.J.S, Fonseca L.S., Silva S.M.M.S. 2011. Intoxicação experimental pelas favas de *Enterolobium* sp. em caprinos. Disponível em <http://leg.ufpi.br/20sic/Documentos/RESUMOS/Modalidade/Vida/dc5c768b5dc76a084531934b34601977.pdf>. Acesso dia 07/10/2015

Dijkstra J., Ellis J.L., Kebreab E., Strathe A.B., López S., France J., Bannink A. 2012. Ruminant pH regulation and nutritional consequences of low pH. **Anim Feed Sci. Technol.** 172;22-33.

Francis G., Kerem Z., Makkar H.P.S., Becker K. 2002. The biological action of saponins in animal systems: a review. **Br. J. Nut.** 88;587-605.

Gelberg H.B. Alimentary System and the Peritoneum, Omentum, Mesentery, and Peritoneal Cavity. 2017. In: Zachary J.F. **Pathologic Basis of Veterinary Disease**. 6.ed., Elsevier, St. Louis, Missouri, capítulo 7;324-411.

Grecco F.B., Dantas A.F.M., Riet-Correa F., Leite C.G.D., Bonel-Raposo J. 2002. Cattle intoxication from *Enterolobium contortisiliquum* pods. **Vet. Human Toxicol.** 44;160-162.

Jones S.L. & Smith B.P. 2015. Diseases of the alimentary tract. In: Smith, B. P. **Large Animal Internal Medicine**. 5.ed. Elsevier, St. Louis, Missouri, capítulo 32;638-843.

Lorenzi H. 1992. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Plantarum, Nova Odessa, São Paulo, 177.

Matos F.J.A., Lorenzi H., Santos L.F.L., Matos M.E.O., Silva M.G.V., Sousa M.P. *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. In: Matos F.J.A., Lorenzi H., Santos L.F.L., Matos M.E.O., Silva M.G.V., Sousa M.P. **Plantas tóxicas: estudo de fitotóxicologia química de plantas brasileiras**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, São Paulo, 2011, 106-107.

Mello G.W.S., Oliveira D.M., Carvalho C.S.J., Pires L.V., Costa F.A.L., Riet-Correa F., Silva S.M.M. 2010. Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos no Norte Piauiense. **Pesq. Vet. Bras.** 30;1-9.

Mendonça F.S., Evêncio-Neto J., Baratella-Evêncio L., Dória R.G.S., Freitas S.H., Pelegrini L.F., Cruz R.A.S., Ferreira E.V., Colodel E.M. 2009. Natural and experimental poisoning of cattle by *Enterolobium contortisiliquum* pods (Fabaceae Mimosoideae) in Central-Western Brazil. **Acta Vet.** 78;621-625.

Mimaki Y., Harada H., Sakuma C., Haraguchi M., Yui S., Kudo T., Yamazaki M., Sashida Y. 2003. Enterolosaponins A and B, novel triterpene disdesmosides from *Enterolobium contortisiliquum*, and evaluation for their macrophage-oriented cytotoxic activity. **Bio. Med. Chem. Letters** 13;623-627.

Mimaki, Y., Harada Y., Sakuma C., Haraguchi M., Yui S., Kudo T., Yamazaki M., Sashida Y. 2004. Contortisilioides A-G: Isolation of seven new triterpene bisdesmosides from *Enterolobium contortisiliquum* and their cytotoxic activity. **Helvetica Chim. Acta** 87;851-865.

Nagaraja T.G. & Lechtenberg K.F. 2007. Acidosis in feedlot cattle. **Vet. Clin. Food Anim.** 23;333-350.

Nagaraja T.G. & Titgemeyer E.C. 2007. Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. **J. Dairy Sci.** 90 (e.suppl);e17-e38.

Nakahata A.M., Mayer B., Ries C., Paula C.A.A., Karow M., Neth P., Sampaio M.U., Jochum M., Oliva M.L.V. 2011. The effects of a plant proteinase inhibitor from *Enterolobium contortisiliquum* on human tumor cell lines. **J. Biol. Chem.** 392;327-336.

Olinda R.G., Medeiros R.M.T., Dantas A.F.M., Lemos R.A.A., Riet-Correa F. 2015. Intoxicação por *Enterolobium contortisiliquum* em bovinos na região nordeste do Brasil. **Pesq. Vet. Bras.** 35;44-48.

Oliveira D.M., Medeiros J.M.A., Assis A.C.O., Neves P.B., Galiza G.J.N., Simões S.V.D., Dantas A.F.M., Riet-Correa F. 2009. Acidose láctica ruminal aguda em caprinos. **Ciênc. Anim. Bras.** 1 (Suppl.);117-122.

Pessoa C.R.M., Medeiros R.M.T., Riet-Correa F. 2013. Importância econômica, epidemiologia e controle das intoxicações por plantas no Brasil. **Pesq. Vet. Bras.** 33(6):752-758.

Purisco E. & Lemos R.A.A. 2008. Plantas que causam fotossensibilização hepatógena. In: Lemos R.A.A. & Leal C.R.B. **Doenças de impacto econômico em bovinos de corte – perguntas e respostas**. Editora UFMS, Campo Grande, MS, capítulo 3;231-241.

Riet-Correa F., Méndez M.C. Introdução ao estudo das plantas tóxicas. In: Riet-Correa F., Méndez M.C. & Schild A.L. 1993. **Intoxicação por Plantas e Micotoxicoses em Animais Domésticos**. Editorial Agropecuária Hemisferio Sur, Montevideo, capítulo 1; 1-20.

Riet-Correa F., Bezerra C.W.C., Medeiros R.M.T. 2011. **Plantas tóxicas do Nordeste**. Sociedade Vicente Pallotti Editora. Patos, PB. 79p.

Riet-Correa F., Medeiros R.M.T., Schild A.L. 2012. A review of poisonous plants that cause reproductive failure and malformations in the ruminants of Brazil. **J.Appl. Toxicol.** 32;245-254.

Rissi D.R., Rech R.R., Pierezan F., Gabriel A.L., Trost M.E., Brum J.S., Kommers G.D., Barros C.S.L. 2007. Intoxicações por plantas e micotoxinas associadas a plantas em bovinos no Rio Grande do Sul: 461 casos. **Pesq. Vet. Bras.** 27(7):261-268.

Sant'ana F.J.F., Reis Junior J.L., Freitas Neto A.P., Moreira Junior C.A., Vulcani V.A.S., Rabelo R.E., Terra J.P. 2014. Plantas tóxicas para ruminantes do Sudoeste de Goiás. **Ciênc. Rural** 44;865-871.

Santos J.E.P. Distúrbios metabólicos. 2006. In: Berchielli, T.T.; Pires, A.V.; Oliveira, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funesp, capítulo 15;423-496.

Santos J.C.A., Riet-Correa F., Simões S.V.D., Barros C.S.L. 2008. Patogênese, sinais clínicos e patologia das doenças causadas por plantas hepatotóxicas em ruminantes e equinos no Brasil. **Pesq. Vet. Bras.** 28;1-14.

Schons S.V. 2011. **Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos na região central de Rondônia**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2011, 78p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Pelotas.

Silva D.M., Riet-Correa F., Medeiros R.M.T., Oliveira O.F. 2006. Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos no Seridó Ocidental e Oriental do Rio Grande do Norte. **Pesq. Vet. Bras.** 26;223-236.

Silva N.S., Silveira J.A.S., Campos K.F., Sousa M.G.S., Lopes C.T.A., Oliveira C.M.C., Duarte M.D., Barbosa J.D. 2009. Acidose ruminal em ovinos, diagnosticada pela Central de Diagnóstico Veterinário (CEDIVET) na Universidade Federal do Pará, no período de 2000 a 2008. **Ciênc. Anim. Bras.** 1 (Suppl);191-196.

Souza R.I.C., Santos A.C., Ribas N.L.K.S., Colodel E.M., Leal P.V., Pupin R.C., Carvalho N.M., Lemos R.A.A. 2015. Doenças tóxicas de bovinos em Mato Grosso do Sul. **Semin.: Ciênc. Agrár.** 36;1355-1368.

Tokarnia C.H., Dobereiner J., Dutra I.S., Brito I.S., Chagas B.R., França T.N., Brust L.A.G. 1999. Experimentos em bovinos com as favas de *Enterolobium contortisiliquum* e *E. timbouva* para verificar propriedades fotossensibilizantes e/ou abortivas. **Pesq. Vet. Bras.** 19;39-45.

Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V., Dobereiner J. 2012. **Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção**. 2ª ed. Helianthus, Rio de Janeiro, capítulo 2, 95-146.

Wina E., Muetzel S., Becker K. 2005. The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant production – a review. **J. Agric. Food Chem.** 53;8093-8105.

ARTIGO***Enterolobium contortisiliquum* É UMA CAUSA DE ACIDOSE
RUMINAL AGUDA EM OVINOS**

Rayane C. Pupin, Paula V. Leal, Stephanie C. de Lima, Gleice Kelli A. de Melo,
Arnildo Pott, Marcelo A. Araújo, Claudio S. L. Barros, Ricardo A. A. de Lemos

***Enterolobium contortisiliquum* é uma causa de acidose ruminal aguda em ovinos**

Rayane C. Pupin^{a*}, Paula V. Leal^a, Stephanie C. de Lima^b, Gleice Kelli A. de Melo^a, Arnildo Pott^c, Marcelo A. Araújo^d, Claudio S.L. Barros^d, Ricardo A.A. Lemos^d

^aPrograma de Pós-Graduação em Ciência Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Av. Senador Felinto Muller, 2443, Campo Grande, MS 79074-460, Brazil

^b Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, MS, Brazil

^c Laboratório de Botânica, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS), UFMS, Cidade Universitária, s/n, Campo Grande, MS 79070-900, Brazil

^dFAMEZ, UFMS, Campo Grande, MS, Brazil.

*Corresponding author. Tel.: +55 67 33453615

E-mail addresses: rayane.pupin@gmail.com (R.C. Pupin), paulavleal@hotmail.com (P.V. Leal), stephanie_k_lima@hotmail.com (Lima S.C.), gleiceayardes@gmail.com (Melo G.K.A.), arnildo.pott@gmail.com (Pott A), marcelo.augusto@ufms.br (M.A. Araújo), claudioslbarros@uol.com.br (Barros C.S.L.), ricardo.lemos@ufms.br (R.A.A. Lemos).

Resumo: A ingestão de frutos de *Enterolobium contortisiliquum* é associada a sinais clínicos digestivos, fotossensibilização e aborto em ruminantes domésticos. Esse experimento foi realizado com o objetivo de testar a hipótese de que os sinais digestivos nessa intoxicação estão relacionados à acidose ruminal aguda. Foram utilizadas sete ovelhas sem raça definida (SRD), com peso corporal entre 30 e 40 kg, cinco delas prenhes entre 3º e 4º mês de gestação. O experimento foi realizado em duas fases: na fase I, as ovelhas receberam doses diárias de 5 a 15g/kg PV dos frutos por 1 a 10 dias consecutivos e na fase II doses de 10 a 15g/kg PV por 1 a 10 dias consecutivos na fase II. Três ovelhas desenvolveram acidose ruminal; uma delas recuperou-se após tratamento com bicarbonato de sódio, reforçando a ocorrência de acidose ruminal. As outras duas ovelhas morreram. Nessas duas, os valores de lactato sanguíneo foram 18 mg/dL e 196.88 mg/dL, indicando que a causa da morte foi acidose metabólica. Achados de necropsia incluíram acentuação do padrão lobular

do fígado e múltiplas áreas vermelhas e extensas na mucosa do rúmen. Histopatologicamente, o epitélio da mucosa do rúmen e do retículo estava tumefeito, vacuolizado e com pústulas intraepiteliais. Ulceração focal da mucosa ruminal foi observada em uma ovelha. No fígado, degeneração vacuolar multifocal dos hepatócitos e necrose individual de hepatócitos foram observadas. Adicionalmente, quatro ovelhas apresentaram elevações nos níveis séricos de aspartato aminotransferase e gamaglutamil transferase, indicando que a planta também possui efeitos hepatotóxicos. Ingestão repetida de doses subletais induziu tolerância e não induziu efeitos acumulativos. Concluiu-se que a principal manifestação clínica da intoxicação por *E. contortisiliquum* em ovinos foi a acidose ruminal aguda e a acidose metabólica. Ingestão repetida de doses subletais pode estimular a proliferação da flora ruminal que degrada o açúcar presente nos frutos e assim previne a acidose. A planta também é hepatotóxica e não foram observados casos de aborto.

Palavras-chave: planta tóxica, *Enterolobium contortisiliquum*, acidose láctica, hepatotoxicidade

Abstract: The ingestion of pods of *Enterolobium contortisiliquum* is associated with digestive disturbances, photosensitivity and abortion in domestic ruminants. This experiment was designed to test the hypothesis that digestive disturbances in this toxicosis are really caused by acute ruminal acidosis. Seven adult mixed breed ewes between 30 – 40 kilograms were used and five of that were pregnant, between 3-4 months. The experiment was done in two phases: at phase I, the ewes received the pods in daily doses of 5-15g/kg/body weigh[bw] during 1-10 consecutive days and at phase II, received daily doses of 10-15g/kg bw during 1-10 consecutive days. Three sheep fed large doses (10-15 g/kg/body weight [bw]) of *E. contortisiliquum* pods developed ruminal acidosis; one of these was treated with sodium bicarbonate and recovered, providing additional evidence of the involvement of ruminal acidosis in the pathogenesis of toxicosis. The other two sheep died. In these, the values of blood lactate were 18 mg/dL and 196.88 mg/dL, indicating metabolic acidosis as the cause of death. Necropsy findings included the accentuation of the hepatic lobular pattern and multiple focally extensive red areas in the rumen mucosa. Histopathologically, the epithelial mucosa of the rumen and reticulum exhibited swollen and vacuolated epithelia with intraepithelial pustules. Focal ulceration of the mucosa was also

observed. Multifocal vacuolar degeneration of hepatocytes and scattered individual hepatocellular necrosis were evident in the liver. Additionally, four sheep developed elevated serum levels of aspartate aminotransferase and gamma glutamyl transferase, indicating that the pods had hepatotoxic effects. Repeated ingestion of small doses induced tolerance but did not induce cumulative effects. We concluded that the main clinical manifestation of intoxication by *E. contortisiliquum* pods in sheep was acute ruminal lactic acidosis and metabolic acidosis. Ingestion of repeated sublethal doses could stimulate proliferation of the ruminal fauna that degrades the sugar present in the pods, and thereby prevent the occurrence of ruminal acidosis. The plant is also hepatotoxic, and no abortions were observed.

Keywords: poisonous plants, *Enterolobium contortisiliquum*, Lactic acidosis, Hepatotoxicity

Introdução

Enterolobium contortisiliquum, popularmente conhecido como tamboril, orelha de macaco, timbaúba, timbó (Costa et al. 2009), é uma leguminosa da família Mimosoideae comumente descrita como tóxica, principalmente para bovinos, causando abortos, fotossensibilização hepatógena e sinais clínicos de distúrbios digestivos (Silva et al. 2006, Assis et al. 2009, Mello et al. 2010, Schons 2011, Bezerra et al. 2012, Tokarnia et al. 2012, Sant'ana et al. 2014, Souza et al. 2015). Também são descritos casos de diarreia e abortos em cabras (Benício et al. 2005, Assis et al. 2009) e de fotossensibilização hepatógena em ovinos (Bezerra et al. 2012).

Numerosas saponinas triterpenoides já foram identificadas nas sementes e frutos de *E. contortisiliquum*, sendo as principais enterolosaponina A e contortisilioide B que são tóxicos para macrófagos, e contortisilioide A e C, que são tóxicos para macrófagos e células do linfoma murino (Mimaki et al. 2003, 2004). Outras saponinas que já foram identificadas incluem enterolosaponina B, contortisilíoides D-G e enterolobina (Castro-Faria-Neto et al. 1991, Mimaki et al. 2003, 2004).

A intoxicação pelos frutos de *E. enterolobium* induz sinais clínicos de distúrbios gastrointestinais como diarreia, anorexia, atonia ruminal, apatia, desidratação e taquipneia (Tokarnia et al. 1999, Grecco et al. 2002, Mendonça et al. 2009, Dias et al. 2011, Schons 2011, Bacha 2012, Tokarnia et al. 2012, Bacha et al. 2016). Apesar desses sinais clínicos, em poucos estudos foram descritas alterações histopatológicas

nos pré-estômagos, que incluíam degeneração do epitélio, com formação de vesículas e pústulas intraepiteliais preenchidas por neutrófilos (Grecco et al. 2002, Dias et al. 2011, Bacha 2012, Bacha et al. 2016). Em um desses estudos realizados pelo nosso grupo de pesquisa (Bacha 2012), um ovino apresentou pH ruminal abaixo de 5,0 e isso não foi associado ao consumo da planta. Em experimento subsequente (Bacha et al. 2016) altos teores de açúcar foram encontrados nos frutos de *E. contortisiliquum*.

Levantou-se a hipótese que ruminantes que ingerem grandes doses de frutos de *E. contortisiliquum* desenvolvem acidose ruminal láctica aguda devido aos carboidratos fermentáveis presentes na planta e que essa seria a causa dos “distúrbios digestivos” associados à intoxicação pelo *E. contortisiliquum*.

Os objetivos do presente estudo foram: (1) comprovar que administração intrarruminal dos frutos de *E. contortisiliquum* pode causar acidose ruminal láctica aguda; (2) avaliar se os frutos possuem ação hepatotóxica através da avaliação dos níveis séricos de enzimas indicadoras da função hepática; (3) avaliar se a administração intrarruminal dos frutos a ovelhas prenhes pode causar abortos; (4) avaliar se a administração intrarruminal dos frutos podem causar fotossensibilização hepatógena; (5) avaliar se há desenvolvimento de tolerância à intoxicação após a ingestão consecutiva de doses subletais.

Materiais e Métodos

Os frutos maduros de *Enterolobium contortisiliquum* foram coletados em outubro de 2015 em uma propriedade no município de Miranda, Mato Grosso do Sul, com histórico de abortos e fotossensibilização em bovinos que foram associadas ao consumo dessa planta. A planta foi identificada como *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. no Laboratório de Botânica e uma amostra foi armazenada no Herbário CGMS (número 44247) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Brasil.

Após a coleta, os frutos foram armazenados por uma semana em ambiente com boa luminosidade e ventilação. Posteriormente foram triturados em moinho de facas Trapp® TRF70. As favas moídas foram acondicionadas em sacos de estopa e armazenadas a temperatura ambiente por dois dias até o início do experimento, quando foram administradas por via intrarruminal a ovelhas através de cânula ruminal.

Foram utilizadas sete ovelhas adultas sem raça definida, com peso corporal entre 30-40 kg. Cinco dessas estavam prenhes – entre 3º e 4º mês de gestação – já

que abortos são associados à intoxicação. Antes do início do experimento todas os animais foram submetidos a avaliação física e do nível de parasitismo através da contagem de ovos por grama de fezes (OPG).

As ovelhas foram alojadas em gaiolas de metal que foram colocadas sobre grama mato grosso (*Paspalum notatum*) e que eram deslocadas diariamente, ficando expostas ao sol. As gaiolas eram cobertas com lona nas horas mais quentes do dia (10:00 as 14:00) e durante à noite. Diariamente forneceu-se ração comercial para ovinos (250g/animal), sal mineral para ovinos (30g/animal), água *ad libitum* e silagem de milho.

Para avaliar se as ovelhas desenvolveram tolerância aos efeitos tóxicos da planta, em cinco das sete ovelhas utilizadas realizou-se desafio com doses de 10g/kg PV ou 15g/kg PV por 1-10 dias. Diariamente, os animais eram submetidos a exame físico para avaliação da frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura retal e motilidade ruminal, além de exame complementar para mensuração do pH ruminal utilizando peagâmetro eletrônico. Quando eram observados sinais clínicos de acidose ruminal láctica aguda como apatia, anorexia, sialorreia, desidratação, tempo prolongado em decúbito, conteúdo ruminal espumoso e/ou amarelado e diarreia, a avaliação do pH era intensificada e realizada com intervalos de três horas e caso atingisse níveis abaixo de 5,5, o animal era tratado com 1g/kg de bicarbonato de sódio via intrarruminal baseado no tratamento realizado por Oliveira et al. (2009).

O delineamento experimental está descrito na Tabela 01.

Considerando a ação hepatotóxica descrita nas intoxicações por frutos de *E. contortisiliquum* (Bezerra et al. 2012), amostras de sangue foram coletadas antes da administração da primeira dose da planta, que foi considerado dia 0 (D0), e depois diariamente durante todo o período experimental para mensuração dos níveis séricos de aspartato aminotransferase (AST) e γ -glutamiltansfaerese (GGT). Devido ao grande intervalo entre os valores de AST (60-280 U/L) e GGT (20 a 52 U/L) descritos na literatura (Kaneko et al. 2008) considerou-se como valores de referência àqueles obtidos, para cada animal, no D0. Adicionalmente, realizou-se coleta de sangue em tubos com fluoreto para dosagem do lactato sanguíneo nas ovelhas que desenvolveram sinais clínicos graves de acidose ruminal.

Os animais que morreram foram submetidos ao exame necroscópico com coleta de fragmentos de diversos órgãos em formol 10%, que posteriormente foram

clivados e processados rotineiramente para exame histopatológico e corados com hematoxilina e eosina, para observação em microscópio óptico.

A realização do experimento foi aprovada pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais da UFMS sob protocolo 660/2015.

Resultados

Três ovelhas (1, 3 e 7) desenvolveram acidose. Os sinais clínicos foram similares e incluíram apatia, prostração, diarreia esverdeada, salivação profusa e relutância em movimentar-se. O conteúdo ruminal era espumoso e amarelado, com odor ácido. Uma ovelha (1) morreu 18 horas após a administração da primeira dose da planta; a outra (3) recuperou-se após realização de transfaunação; e a ovelha 7 recuperou-se após tratamento com bicarbonato de sódio durante a primeira fase, no entanto, morreu após realização da segunda fase do experimento. No dia anterior a morte, os níveis sanguíneos de lactato eram 18 mg/dL e 196.88 mg/dL nas ovelhas 1 e 7, respectivamente, indicando a ocorrência de acidose metabólica além da morte por choque hipovolêmico.

A necropsia, os achados em ambos os animais foram semelhantes, no entanto foram mais intensos na ovelha 7; incluíam áreas avermelhadas multifocalmente extensas na mucosa do rúmen, conteúdos ruminal e intestinal líquidos e amarelo-esverdeados, secreção serosa nas narinas, vasos superficiais da traqueia ingurgitados, fígado com padrão lobular evidenciado e focos avermelhados.

Histopatologicamente, a mucosa ruminal da ovelha 1 estava tumefeita e vacuolizada com formação de pústulas intraepiteliais. Infiltrado inflamatório linfoplasmocítico foi observado na submucosa de forma multifocal. No fígado, havia degeneração vacuolar multifocal e discreta necrose individual de hepatócitos. Adicionalmente, havia agregados de macrófagos com citoplasma espumoso, principalmente nas regiões centrolobulares. Essa última lesão é considerada um achado incidental, visto que é quase sempre observada no fígado de ruminantes que consomem *Urochloa (Brachiaria)* spp. (Lemos et al. 1996).

Os achados histopatológicos no rúmen e no fígado da ovelha 7 foram similares, no entanto mais pronunciados. As lesões epiteliais estendiam-se para o retículo e havia moderada ulceração da mucosa ruminal.

Quatro ovelhas (3, 4, 5 e 7) que receberam os frutos de *E. contortisiliquum* apresentaram níveis elevados de AST e GGT. Em duas ovelhas (2 e 6) os níveis

bioquímicos permaneceram dentro do intervalo de referência da normalidade, e não ocorreram sinais clínicos de acidose. Os níveis séricos diários de AST e GGT das ovelhas que receberam mais de uma dose dos frutos estão representados nas Figuras 1 e 2.

Discussão

Nesse estudo, demonstrou-se que a acidose ruminal é relacionada a ingestão de frutos de *E. contortisiliquum*. O início dos sinais clínicos ocorreu 8-12 horas após a administração dos frutos e eram similares aos descritos na literatura em animais com acidose ruminal (Nagaraja & Lechtenberg 2007, Almeida et al. 2008, Oliveira et al. 2009, Silva et al. 2009, Jones & Smith 2015). Sabe-se que a acidose ruminal aguda pode ser induzida pela ingestão de grandes quantidades de carboidratos altamente fermentáveis, principalmente nos animais que não são adaptados a esse tipo de dieta (Nagaraja & Titgemeyer 2007). Os frutos de *E. contortisiliquum* contêm maior quantidade desse tipo de carboidrato do que o recomendado para manutenção da função normal do rúmen (Bacha et al. 2016), o que suporta a hipótese de que os carboidratos nos frutos do *E. contortisiliquum* são a causa da acidose ruminal aguda e, conseqüentemente, dos sinais clínicos descritos como digestivos (Tokarnia et al. 2012). Adicionalmente, as lesões ruminais características de acidose ruminal (Gelberg 2012) observadas nas duas ovelhas que morreram e os níveis elevados de lactato sanguíneo sustentam essa hipótese.

Uma das ovelhas (3) que recebeu a planta triturada associada a 0.5 g/kg PV de bicarbonato de sódio por três dias consecutivos apresentou sinais clínicos de acidose ruminal aguda logo após a primeira dose da planta. A administração dos frutos foi suspensa por cinco dias e depois retomada por mais 10 dias consecutivos, sem nova manifestação clínica de acidose ruminal aguda. Esses resultados reforçam a hipótese de que a planta não tem efeito acumulativo e que a administração de doses subletais pode induzir tolerância à intoxicação (Tokarnia et al. 2012), sugerindo uma adaptação da flora ruminal e manutenção do pH. A adaptação a ingestão de dietas com abundante teor de carboidratos não estruturais envolve a proliferação de microorganismos amilolíticos, proliferação de bactérias que utilizam lactato como *Megasphaera elsdenii* e *Selenomonas ruminantium*, e também o aumento na capacidade do epitélio ruminal de absorver ácidos graxos voláteis (Antunes & Rodriguez 2006, Nagaraja & Titgemeyer 2007, Nagaraja & Lechtenberg 2007). Esses resultados

indicam que a tolerância adquirida após a ingestão de doses subletais da planta poderia ser usada para prevenção da intoxicação. Doses de 12g/kg PV ou maiores são potencialmente letais para os ovinos e responsáveis por quadro digestivo grave (Bacha et al. 2016). Esse achado foi corroborado pela morte da ovelha 7 devido à acidose metabólica, após receber duas doses de 15 g/kg PV de frutos de *E. contortisiliquum*. A falha no desenvolvimento da tolerância provavelmente está associada à grande quantidade de frutos que não conferiu tempo suficiente para a proliferação de bactérias amilolíticas.

Os resultados deste experimento indicam que a intoxicação espontânea e morte decorrente da ingestão de *E. contortisiliquum* ocorrem devido ao início súbito de distúrbios digestivos e acidose ruminal aguda.

Adicionalmente, demonstraram-se os efeitos hepatotóxicos dos frutos em quatro das seis ovelhas que sobreviveram por mais de dois dias após a administração da planta. Nessas ovelhas, houve aumento significativo nos níveis séricos de AST e GGT, sendo essas alterações mais frequentes e mais intensas do que as previamente descritas em ovinos (Bacha et al. 2016). No entanto, apesar dos frutos utilizados terem sido coletados numa propriedade com histórico de fotossensibilização hepatógena em bovinos, não foram observados sinais clínicos de fotossensibilização em nenhuma das ovelhas desse experimento.

Casos de aborto também não ocorreram nas ovelhas. Abortos associados ao consumo de *E. contortisiliquum* ocorrem em ruminantes que se recuperam da intoxicação ou que ingerem quantidades subletais da planta (Olinda et al. 2015). Em um experimento (Bonel-Raposo et al. 2008), todos os porquinhos da Índia que estavam gestantes abortaram após receberem a planta. Esse é o único experimento em que essa manifestação clínica foi observada, podendo ter sido causada por efeitos diretos ou indiretos da planta.

É possível que fotossensibilização hepatógena e aborto descritos nos casos naturais ocorram em animais que não desenvolvem ou que se recuperam da acidose ruminal aguda. No entanto, esse fato não foi corroborado pelo nosso estudo, visto que as ovelhas que não morreram foram acompanhadas por vários meses e nenhuma das manifestações clínicas foram observadas.

Em duas ovelhas (2 e 6), não ocorreram evidências de acidose ruminal e nem de lesão hepática, indicando que graus diferentes de suscetibilidade podem existir dentro de um rebanho. Isso já foi descrito em outros estudos envolvendo *E.*

contortisiliquum (Tokarnia et al. 1999, Grecco et al. 2002). Além disso, alguns ruminantes parecem ser mais resistentes à diminuição do pH ruminal devido à maior taxa de absorção de ácidos graxos voláteis (Dijkstra et al. 2012).

A ingestão de frutos de outras leguminosas pertencentes à mesma subfamília (Mimosoideae) do *E. contortisiliquum*, são conhecidas por serem tóxicas para bovinos e induzirem sinais clínicos semelhantes a essa, incluindo sinais digestivos, fotossensibilização e abortos. Essas árvores incluem *E. gummiferum*, *Stryphnodendron coriaceum*, *S. obovatum* e *S. fissuratum* (Riet-Correa et al. 2012). É possível que a patogênese dos sinais digestivos observados nesses casos sejam semelhantes à patogênese do *E. contortisiliquum*.

Conclusão

As principais manifestações clínicas da intoxicação por *E. contortisiliquum* em ovinos são acidose ruminal láctica aguda e acidose metabólica. A planta também é hepatotóxica, o que foi demonstrado pelas elevações de AST e GGT. Não ocorreram abortos e nem fotossensibilização hepatógena nas ovelhas. A ingestão repetida de doses subletais pode estimular a proliferação da flora ruminal, que é capaz de degradar o açúcar e prevenir a acidose.

Agradecimentos

Esse trabalho foi financiado pela Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT/CNPq - Grant 15/2014 - PRONEM - MS - Grant 59/300.126/2015) e pela Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT/CAPES nº 05/2014 - PVMS - 59/300.032/2015).

Referências

Almeida M.Z.P.R.B., Mendonça C.L., Afonso J.A.B., Neto E.G.M. 2008. Estudo clínico, hematológico e bioquímico em caprinos submetidos à acidose láctica ruminal induzida experimentalmente. **Vet. Zootec.** 15;100-113.

Antunes R.C., Rodriguez N.M. 2006. Metabolismo de carboidratos não estruturais. In: Berchielli T.T., Pires A.V., Oliveira, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Funesp, Jaboticabal, pp. 229-254.

Assis T.S., Medeiros R.M.T., Araújo J.A.S., Dantas A.F.M., Riet-Correa F. 2009. Intoxicações por plantas em ruminantes e equídeos no Sertão Paraibano. **Pesq. Vet. Bras.** 29;919-924.

Bacha F.B. 2012. **Intoxicação experimental por *Enterolobium contortisiliquum* em ovinos: caracterização clínica, patológica e efeito da adaptação ao consumo da planta.** Campo Grande: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Dissertação de Mestrado em Ciência Animal, 36p.

Bacha F.B., Pupin R.C., Leal P.V., Carvalho N.M., Franco G.L., Ítavo C.C.B.F., Riet-Correa F., Lemos R.A.A. 2016. Experimental intoxication by *Enterolobium contortisiliquum* in sheep. **Pesq. Vet. Bras.** (In Press)

Benício T.M.A., Nardelli M.J., Nogueira F.R.B., Araújo J.A.S., Riet-Correa F. 2005. Intoxication by the pods of *Enterolobium contortisiliquum* in goats. In: Panter K.E., Wierenga T.L. and Pfister J.A. (Eds). **Poisonous Plants: Global Research and Solutions**, CABI Publishing, Wallingford, Oxford, 67-76.

Bezerra C.W.C., Medeiros R.M.T., Rivero B.R.C., Dantas A.F.M., Amaral F.R.C. 2012. Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos na microrregião do Cariri Cearense. **Ciênc. Rural** 42;1070-1076.

Bonel-Raposo J., Riet-Correa F., Guim T.N., Schuch I.D., Grecco F.B., Fernandes C.G. 2008. Intoxicação aguda e abortos em cobaias pelas favas de *Enterolobium contortisiliquum* (Leg. Mimosoideae). **Pesq. Vet. Bras.** 28;593-596.

Castro-Faria-Neto H.C., Martins M.A., Bozza P.T., Perez S.A.C., Correa-da-Silva A.C.V., Lima M.C.R., Cruz H.N., Cordeiro R.S.B., Sousa M.V., Morhy L. 1991. Pro-inflammatory activity of enterolobin: a haemolytic protein purified from seeds of the brazilian tree *Enterolobium contortisiliquum*. **Toxicon**, 29(9);1143-1150.

Costa R.D.L., Marini A., Tanaka D., Berndt A., Andrade F.M.E. 2009. Um caso de intoxicação de bovinos por *Enterolobium contortisiliquum* (timboril) no Brasil. **Arch. Zootec.** 58(222);313-316.

Dias A.C.S., Franklin F.L.A.A., Carvalho C.J.S, Fonseca L.S., Silva S.M.M.S. 2011. **Intoxicação experimental pelas favas de *Enterolobium* sp. em caprinos.** Disponível em <http://leg.ufpi.br/20sic/Documentos/RESUMOS/Modalidade/Vida/dc5c768b5dc76a084531934b34601977.pdf>. Acesso dia 07/10/2015.

Dijkstra J., Ellis J.L., Kebreab E., Strathe A.B., López S., France J., Bannink A. 2012. Ruminal pH regulation and nutritional consequences of low pH. **Anim Feed Sci. Technol.** 172;22-33.

Gelberg H.B. 2012. Alimentary system and the peritoneum, omentum, mesentery and peritoneal cavity. In: Zachary J.F. and McGavin M.D (Eds.). **Pathologic Basis of Veterinary Disease**. 5th ed. Elsevier, St. Louis, capítulo 7;322-404.

Grecco F.B., Dantas A.F.M., Riet-Correa F., Leite C.G.D., Bonel-Raposo J. 2002. Cattle intoxication from *Enterolobium contortisiliquum* pods. **Vet. Human Toxicol.** 44;160-162.

Jones S.L. & Smith B.P. 2015. Diseases of the alimentary tract. In: Smith, B. P. **Large Animal Internal Medicine**. 5.ed. Elsevier, St. Louis, Missouri, capítulo 32:638-843.

Kaneko J.J., Harvey J.W., Bruss M.L. 2008. Appendix VIII Blood Analyte Reference Values in Large Animals. In: Kaneko J.J., Harvey J.W., Bruss M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6th ed. Academic Press, San Diego.

Lemos R.A.A., Ferreira L.C.L., Silva S.M., Nakazato L., Salvador S.C. 1996. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em ovinos em pastagens com *Brachiaria decumbens*. **Ciênc. Rural** 26;109-113.

Mello G.W.S., Oliveira D.M., Carvalho C.S.J., Pires L.V., Costa F.A.L., Riet-Correa F., Silva S.M.M. 2010. Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos no Norte Piauiense. **Pesq. Vet. Bras.** 30;1-9.

Mendonça F.S., Evêncio-Neto J., Baratella-Evêncio L., Dória R.G.S., Freitas S.H., Pelegrini L.F., Cruz R.A.S., Ferreira E.V., Colodel E.M. 2009. Natural and experimental poisoning of cattle by *Enterolobium contortisiliquum* pods (Fabaceae Mimosoideae) in Central-Western Brazil. **Acta Vet.** 78;621-625.

Mimaki Y., Harada H., Sakuma C., Haraguchi M., Yui S., Kudo T., Yamazaki M., Sashida Y. 2003. Enterolosaponins A and B, novel triterpene disdesmosides from *Enterolobium contortisiliquum*, and evaluation for their macrophage-oriented cytotoxic activity. **Bio. Med. Chem. Letters** 13;623-627.

Mimaki, Y., Harada Y., Sakuma C., Haraguchi M., Yui S., Kudo T., Yamazaki M., Sashida Y. 2004. Contortisilioides A-G: Isolation of seven new triterpene bisdesmosides from *Enterolobium contortisiliquum* and their cytotoxic activity. **Helvetica Chim. Acta** 87;851-865.

Nagaraja T.G. & Lechtenberg K.F. 2007. Acidosis in feedlot cattle. **Vet. Clin. Food Anim. Pract.** 23;333-350.

Nagaraja T.G. & Titgemeyer E.C. 2007. Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. **J. Dairy Sci.** 90 (suppl.);17-38.

Olinda R.G., Medeiros R.M.T., Dantas A.F.M., Lemos R.A.A., Riet-Correa F. 2015. Intoxicação por *Enterolobium contortisiliquum* em bovinos na região nordeste do Brasil. **Pesq. Vet. Bras.** 35;44-48.

Oliveira D.M., Medeiros J.M.A., Assis A.C.O., Neves P.B., Galiza G.J.N., Simões S.V.D., Dantas A.F.M., Riet-Correa F. 2009. Acidose láctica ruminal aguda em caprinos. **Ciênc. Anim. Bras.** 1 (Suppl.);117-122.

Riet-Correa F., Medeiros R.M.T., Schild A.L. 2012. A review of poisonous plants that cause reproductive failure and malformations in ruminants of Brazil. **J. Appl. Toxicol.** 32:245-254.

Sant'ana F.J.F., Reis Junior J.L., Freitas Neto A.P., Moreira Junior C.A., Vulcani V.A.S., Rabelo R.E., Terra J.P. 2014. Plantas tóxicas para ruminantes do Sudoeste de Goiás. **Ciênc. Rural** 44;865-871.

Schons S.V. 2011. **Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos na região central de Rondônia.** Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, Tese de Doutorado em Patologia Animal, 78p.

Silva D.M., Riet-Correa F., Medeiros R.M.T., Oliveira O.F. 2006. Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos no Seridó Ocidental e Oriental do Rio Grande do Norte. **Pesq. Vet. Bras.** 26;223-236.

Silva N.S., Silveira J.A.S., Campos K.F., Sousa M.G.S., Lopes C.T.A., Oliveira C.M.C., Duarte M.D., Barbosa J.D. 2009. Acidose ruminal em ovinos, diagnosticada pela Central de Diagnóstico Veterinário (CEDIVET) na Universidade Federal do Pará, no período de 2000 a 2008. **Ciênc. Anim. Bras.** 1 (Suppl);191-196.

Souza R.I.C., Santos A.C., Ribas N.L.K.S., Colodel E.M., Leal P.V., Pupin R.C., Carvalho N.M., Lemos R.A.A. 2015. Doenças tóxicas de bovinos em Mato Grosso do Sul. **Semin. Ciênc. Agrár.** 36;1355-1368.

Tokarnia C.H., Dobereiner J., Dutra I.S., Brito I.S., Chagas B.R., França T.N., Brust L.A.G. 1999. Experimentos em bovinos com as favas de *Enterolobium contortisiliquum* e *E. timbouva* para verificar propriedades fotossensibilizantes e/ou abortivas. **Pesq. Vet. Bras.** 19;39-45.

Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V., Dobereiner J. 2012. **Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção.** 2ª ed. Helianthus, Rio de Janeiro, capítulo 2, 95-146.

Tabela 1 – Delineamento experimental e evolução clínico-patológica das ovelhas que receberam frutos de *E. contortisiliquum*.

Ovelha	Primeira fase			Intervalo entre as fases (dias)	Segunda fase			Evolução
	Dose inicial (g/kg)	Período de ingestão (dias)	Dose total ingerida na primeira fase (g/kg)		Dose desafio diária (g/kg)	Período de ingestão (dias)	Dose total ingerida na segunda fase (g/kg)	
1	5	1	5	-	-	-	-	Morte ^a
2	5	10	50	-	-	-	-	Não adoeceu
3	10,0 + 0,5g/kg NaHCO ₃	3	30	5	10	10	100	Acidose após a primeira fase e recuperação ^c . ↑AST, GGT
4	10,0 + 0,5g/kg NaHCO ₃	3	30	5	10	10	100	↑AST, GGT
5	10	10	100	5	15	2 ^e	30	↑AST, GGT
6	10	10	100	5	15	2 ^e	30	Não adoeceu
7	15	1	15	8	15	1	15	Acidose após a primeira fase ^b . ↑AST, GGT, Morte ^d

^a Ovelha morreu 18 horas após ingestão da primeira dose durante a primeira fase do experimento; ^b tratamento com bicarbonato de sódio via intrarruminal; ^c tratamento apenas com transfaunação; ^d dois dias após o tratamento para controlar a acidose ruminal (com bicarbonato de sódio) a ovelha apresentou diarreia com estrias de sangue. Em exame parasitológico, constatou-se presença de oocitos de *Eimeria* nas fezes. Animal foi tratado e recuperou-se. Oito dias após a ingestão da primeira dose da planta (primeira fase) animal recebeu uma nova dose de 15g/kg PV (segunda fase) de *E. contortisiliquum* e morreu após 24 horas. ^e intervalo de 48 horas entre as doses.

Figura 1 – *E. contortisiliquum* é uma causa de acidose ruminal em ovinos. Níveis de aspartato aminotransferase (AST) em 6 ovelhas do experimento.

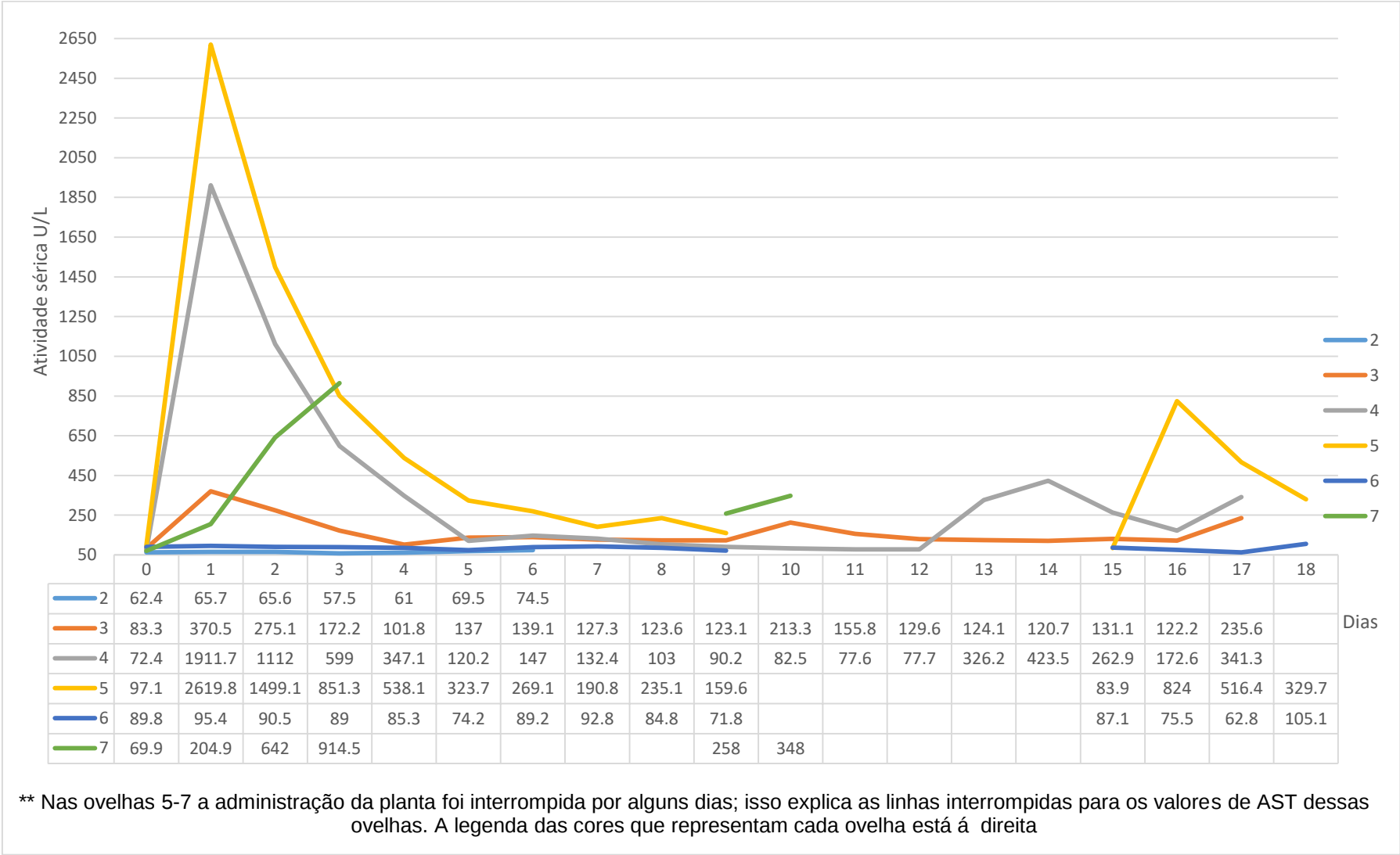
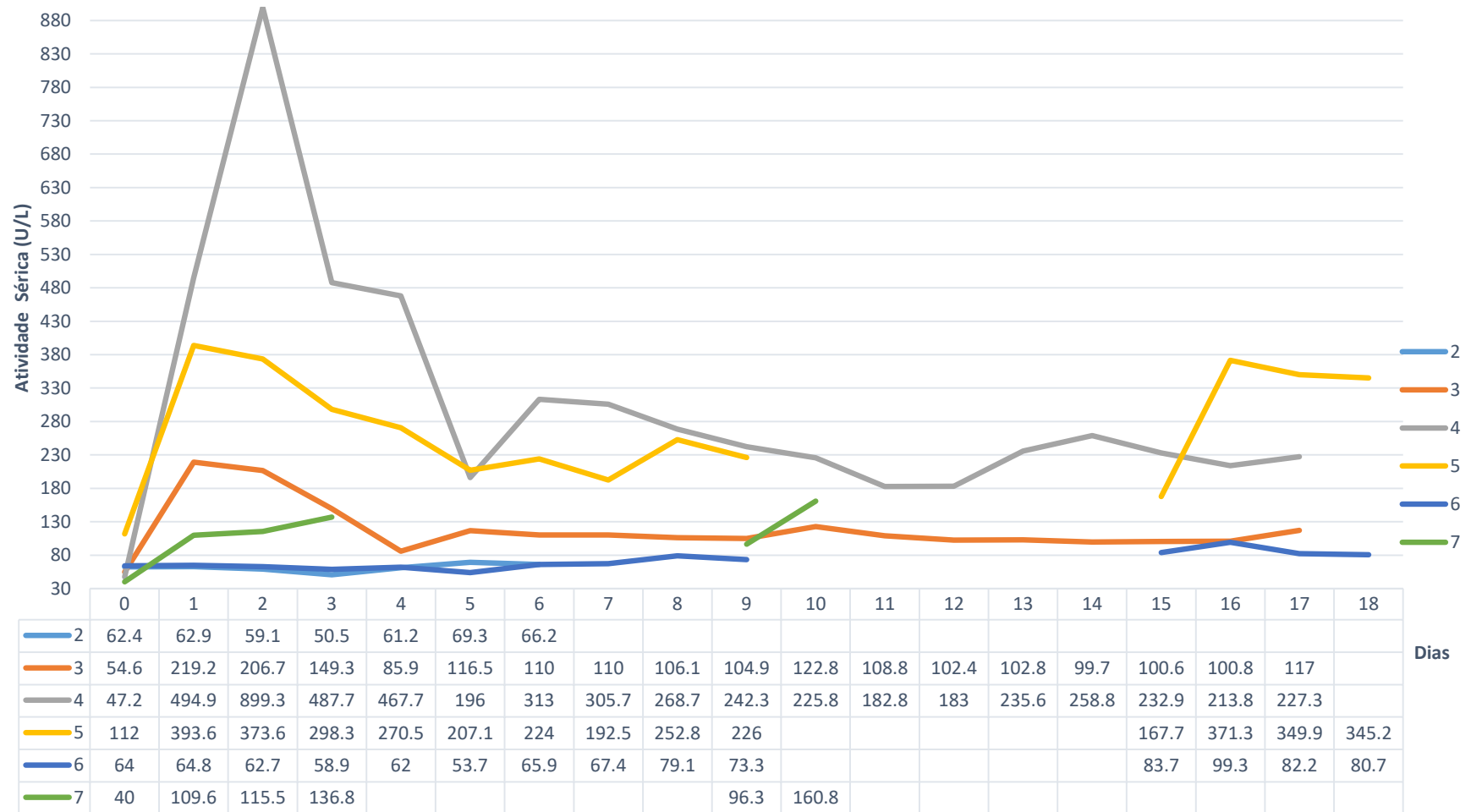


Figura 2 – *E. contortisiliquum* como causa de acidose ruminal em ovinos. Níveis de gama glutamiltransferase (GGT) em 6 ovelhas do experimento.



**nas ovelhas 5-7 a administração da planta foi interrompida por alguns dias; isso explica as linhas interrompidas para os valores de GGT nessas ovelhas. A legenda das cores que representam cada ovelha estão à direita.