

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA POR LARVAS DE *Perreyia*
flavipes (PERGIDAE) EM OVINOS E BOVINOS E
INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL EM OVINOS E COELHOS

DJEISON LUTIER RAYMUNDO

PORTO ALEGRE

2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA POR LARVAS DE *Perreyia*
flavipes (PERGIDAE) EM OVINOS E BOVINOS E
INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL EM OVINOS E COELHOS

Autor: Djeison Lutier Raymundo

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na área de concentração em Cirurgia, Morfologia e Patologia Animal, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (RS).

Orientador: David Driemeier

PORTO ALEGRE

2008

DJEISON LUTIER RAYMUNDO

INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA POR LARVAS DE *Perreyia flavipes*
(PERGIDAE) EM OVINOS E BOVINOS E INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL
EM OVINOS E COELHOS

Aprovado em 26 de fevereiro de 2008

APROVADO POR:

Prof. Dr. David Driemeier
Orientador e Presidente da Comissão

Dr. Ana Lúcia Schild
Membro da Comissão

Prof. Dr. Claudio Severo Lombardo de Barros
Membro da Comissão

Prof. Dr. Aldo Gava
Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais Darlei Leureano Raymundo e Vera Lucia Raymundo, a minha avó Helga Ilse Raymundo por serem exemplos de pessoas e sempre me apoiaram em todos os momentos

A minha irmã Margie e meu cunhado Uandro pela amizade e companheirismo.

Ao meu orientador e Prof. Dr. David Driemeier pelos ensinamentos, amizade, orientação e exemplo de grandes valores nesse tempo de convivência.

Aos amigos Pedro Soares Bezerra Júnior, Isis Abel Bezerra e Cíntia pela valiosa amizade, carinho e companheirismo em sua estada em Porto Alegre.

Aos colegas de patologia Paulo, Pedro Pedroso, André (Uruguaio), André Correa, Adriana Santos que me auxiliaram durante as coletas de larvas e necropsias.

Aos colegas do Setor de Patologia Veterinária Juliano (Ogro), Mauro, Eduardo, Luciana, Caroline, Saulo, Nádia, e estagiários Vacaria, Giovana, Elisa Tesser, Juliana, Marcele, Eloísa e Adriana Meirelles.

Aos funcionários Ângela e Maríalia (Gurias) e Alexandre pela grande ajuda e amizade.

Aos colegas que passaram pelo SPV Daiene, Xênia e Edismair que ajudaram em experimentos e necropsias.

A minha noiva Kiyoko pelo carinho, amor, apoio e confiança em todo esse período que estamos juntos.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	7
LISTA DE FIGURAS	8
RESUMO	10
ABSTRACT	11
1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1. As “Sawflies”	13
2.1.1 Ciclo de Vida das “Sawflies” Tóxicas	15
2.2. Intoxicação pelas Larvas das “Sawflies”	18
2.2.1. Epidemiologia	18
2.2.2. Sinais Clínicos.....	20
2.2.3. Achados de Necropsia.....	21
2.2.4. Achados Histopatológicos.....	22
2.2.5. Princípio Tóxico.....	22
2.2.6. Diagnóstico e Diagnóstico Diferencial	23
2.2.7. Controle.....	24
3. MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1. Casos Espontâneos	26
3.1.1 Ovinos	26
3.1.2 Bovinos	26
3.2. Intoxicação Experimental	26
3.2.1. Intoxicação Experimental em Ovinos	27
3.2.2. Intoxicação Experimental em Coelhoos	28
3.3. Coleta e Processamento de Material	29
4. RESULTADOS	30
4.1.Casos Espontâneos em Ovinos	30
4.1.1 Sinais Clínicos.....	30
4.1.2. Achados Patológicos	30
4.2 Casos espontâneos em Bovinos	32
4.2.1 Achados Patológicos	32
4.3. Intoxicação Experimental em Ovinos	33
4.3.1. Sinais Clínicos.....	34

4.3.2. Achados Laboratoriais	35
4.3.3. Achados Patológicos	38
4.4. Intoxicação Experimental em Coelhos	46
4.4.1 Achados Clínicos e Achados Patológicos	46
5. DISCUSSÃO	49
6. CONCLUSÕES	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
ANEXO A	64
ANEXO B.....	67

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes* em ovinos. Peso corporal, dose em g/kg de peso vivo, larvas e dose total fornecida **27**
- Tabela 2** – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes* em coelhos. Larvas administradas em dose única. Peso corporal, larvas, dose em g/kg de peso vivo e dose total fornecida **28**
- Tabela 3** – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes* em ovinos. Evolução do quadro clínico e morte dos animais que receberam dose única... **34**
- Tabela 4** – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes* em ovinos. Evolução do quadro clínico e morte dos animais que receberam doses graduais **34**
- Tabela 5** – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes* em ovinos. Valores de atividade sérica de GGT. (valores normais para ovinos 20 a 52 U/l) **36**
- Tabela 6** – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes* em ovinos. Valores de atividade sérica de AST.(valores normais para ovinos 60 a 280 mg/dl)..... **37**
- Tabela 7** – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes* em ovinos. Dosagem sérica de glicose. (valores normais para ovinos 50 a 80 mg/dl)..... **38**
- Tabela 8** – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes* em coelhos. Evolução do quadro clínico e morte..... **46**

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mapa demonstrando a distribuição e surtos de intoxicação das larvas de <i>Perreyia flavipes</i> na América do Sul.....	14
Figura 2 – Larva de <i>Perreyia flavipes</i> . Coloração preta brilhante e medindo aproximadamente de 2 cm de comprimento	17
Figura 3 – Larvas de <i>Perreyia flavipes</i> agrupadas em coluna sobre a pastagem.....	18
Figura 4 – Ciclo de vida da <i>Perreyia flavipes</i> . Fonte Dutra, 1997a. Modificado.....	18
Figura 5 – Intoxicação espontânea pelas larvas de <i>Perreyia flavipes</i> . Ovino. Restos de larvas (seta) em meio ao conteúdo ruminal.....	31
Figura 6 – Intoxicação espontânea pelas larvas de <i>Perreyia flavipes</i> . Bovino. Fígado. Superfície de corte com acentuação do padrão lobular.....	33
Figura 7 – Intoxicação experimental pelas larvas de <i>Perreyia flavipes</i> em ovinos. Valores de atividade sérica de GGT	35
Figura 8 - Intoxicação experimental pelas larvas de <i>Perreyia flavipes</i> em ovinos. Valores de atividade sérica de AST.....	37
Figura 9 – Intoxicação experimental pelas larvas de <i>Perreyia flavipes</i> em ovinos. Curva glicêmica	38
Figura 10 – Intoxicação experimental pelas larvas de <i>Perreyia flavipes</i> . Ovino 2. Fígado. Acentuação do padrão lobular na superfície capsular.....	39
Figura 11 – Intoxicação experimental pelas larvas de <i>Perreyia flavipes</i> . Ovino 1. Fígado. Acentuação do padrão lobular na superfície de corte	39
Figura 12 – Intoxicação experimental pelas larvas de <i>Perreyia flavipes</i> . Ovino 2. Fígado. Áreas de coloração amarelada e hemorragias subcapsulares multifocais	40
Figura 13 – Intoxicação experimental pelas larvas de <i>Perreyia flavipes</i> . Ovino 1. Cavidade abdominal. Líquido ascítico coagulado.....	40
Figura 14 – Intoxicação experimental pelas larvas de <i>Perreyia flavipes</i> . Ovino 2. Edema da região perirrenal.....	41
Figura 15 – Intoxicação experimental pelas larvas de <i>Perreyia flavipes</i> . Ovino 1. Fragmentos de larvas de coloração preta (seta) em meio ao conteúdo ruminal....	42
Figura 16 – Intoxicação experimental pelas larvas de <i>Perreyia flavipes</i> . Ovino 1. Visualização de fragmentos de larvas e restos de conteúdo ruminal boiando após mistura com água	42

Figura 17 – Intoxicação experimental pelas larvas de <i>Perreyia flavipes</i> . Ovino 1. Fígado. Necrose coagulativa da região centrolobular e mediozonal associada à hemorragia centrolobular e tumefação de hepatócitos adjacentes. HE, obj 10	43
Figura 18 – Intoxicação experimental pelas larvas de <i>Perreyia flavipes</i> . Ovino 4. Fígado. Necrose coagulativa da região centrolobular e mediozonal. HE, obj 20	44
Figura 19 – Intoxicação experimental pelas larvas de <i>Perreyia flavipes</i> . Ovino. Baço. Necrose focalmente extensa de centros germinativos da polpa branca. HE, obj 40	44
Figura 20 – Intoxicação experimental pelas larvas de <i>Perreyia flavipes</i> . Ovino 6. Fígado. Microscopia eletrônica. Hiperplasia do REL	45
Figura 21 – Intoxicação experimental pelas larvas de <i>Perreyia flavipes</i> . Coelho 3. Petéquias e sufusões difusas e acentuadas nos rins e pulmões	47
Figura 22 – Intoxicação experimental pelas larvas de <i>Perreyia flavipes</i> . Coelho 3. Fígado. Necrose centrolobular difusa associada à congestão. Hepatócitos da região periportal encontravam-se íntegros, mas com grande número de vacuolizações. HE, obj 20	48

RESUMO

INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA POR LARVAS DE *Perreyia flavipes* (PERGIDAE) EM OVINOS E BOVINOS E INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL EM OVINOS E COELHOS

Entre os meses de junho e agosto 2006 dois surtos de intoxicação pelas larvas de *P. flavipes* ocorreram, um em ovinos (surto 1) e outro em bovinos (surto 2). O surto nos ovinos ocorreu nos meses de junho e julho no município de Encruzilhada do Sul RS e morreram 25 ovinos de um rebanho de 175 ovinos e 11 bovinos. Os ovinos eram mantidos em uma área de 40 hectares de pasto nativo. O surto nos bovinos ocorreu no mês de agosto no município de Sombrio SC e morreram 17 animais que estavam num lote de 77 bovinos, o rebanho total da propriedade era de 280 animais. O lote de bovinos estava em uma área de 90 hectares onde dois animais morreram devido à ingestão das larvas de *P. flavipes*. O lote foi transferido para outra área onde morreram mais 15 animais em um período de 5 dias. Seis ovinos do surto 1 e seis bovinos do surto 2 foram necropsiados. Grande quantidade de agrupamentos de larvas de *P. flavipes* foram encontradas no campo e no rúmen dos animais de ambos os surtos. Larvas de *P. flavipes* foram coletadas em ambos os surtos e foram armazenadas congeladas a -20° . Larvas frescas e larvas congeladas foram administradas para 6 ovinos, por meio de uma seringa com a ponta cortada. A menor dose letal foi de 7,5 g/kg em administração única. Animais que receberam doses sub-letais de 5 g/kg e posteriormente doses letais de 10 g/kg e 15 g/kg em intervalos de 15 e 30 dias, mostraram menor sensibilidade à intoxicação, um animal não adoeceu e outro adoeceu apenas depois de receber uma dose de 15 g/kg. Os animais intoxicados experimentalmente mostraram sinais de doença cerca de 48 horas e morreram cerca de 54 horas após a intoxicação. O exame bioquímico realizado em intervalos de 12 horas revelou alterações apenas nos animais que adoeceram. Os níveis séricos de GGT apresentavam-se elevados depois de 24 horas da intoxicação e continuaram a se elevar até a morte, AST apresentou aumento significativo cerca de 30 horas após a dosificação e posteriormente decaindo até a morte, os níveis séricos de glicose sofreram queda próximo à morte dos animais. As lesões de necropsia observadas nos casos espontâneos e experimentais foram semelhantes e mais consistentes no fígado, que se apresentava com acentuação do padrão lobular e com áreas de coloração amarelada com petéquias subcapsulares. Foram observados também edemas cavitários, edema da parede da vesícula biliar, perirrenal e na região inicial do duodeno, pâncreas e abomaso. Além das hemorragias no fígado havia hemorragias no tecido subcutâneo, coração, e mucosas e serosas da cavidade abdominal. O principal achado histopatológico era caracterizado por necrose coagulativa centrolobular ou massiva associada à hemorragia e congestão centrolobular e degeneração e tumefação hepática na região periportal. Observou-se ainda, depleção e necrose linfóide nos centros germinativos de linfonodos, nas placas de Peyer e na polpa branca do baço. A microscopia eletrônica demonstrou lesão hepática com hepatócitos necróticos, e dilatação dos espaços de Disse e endotélio vascular. Foi observada também intensa proliferação de retículo endoplasmático liso no animal que recebeu doses graduais das larvas. As larvas descongeladas e dessecadas a 100°C por 24 horas foram administradas a um coelho e mostraram-se tóxicas. Outros dois coelhos receberam frações sólidas e líquidas das larvas respectivamente e apenas o coelho que recebeu a fração sólida morreu.

Palavras-chave: *Perreyia flavipes*, intoxicação por larvas, necrose hepática, ovinos e bovinos.

ABSTRACT

SPONTANEOUS POISONING BY LARVAE OF *Perreyia Flavipes* (PERGIDAE) IN SHEEP AND CATTLE AND EXPERIMENTAL POISONING IN SHEEP AND RABBITS

Between June and August 2006, two outbreaks of *P. flavipes* larvae poisoning were observed. In outbreak 1 occurred in a farm located at the county of Encruzilhada do Sul, Rio Grande do Sul State, Brazil, 25 out of 175 sheep were affected and died. Although there were 11 cattle in the same paddock, none of them was affected. Animals were kept in a 40 hectares paddock of native pastures. In outbreak 2, occurred in a farm located at county of Sombrio, Santa Catarina State, 11 out of 77 cattle were affected and died. In total, 6 sheep and 6 cattle from respective outbreaks were necropsied. High numbers of compact masses containing up to 150 larvae were scattered on the paddocks in which animals were grazing. Larvae were collected and frozen at -20°C . *Perreyia flavipes* larval body fragments and heads were found in the forestomach contents of all necropsied animals. Fresh and thawed larvae were administered to six sheep by a tip-cut plastic syringe. The lower single lethal dosis was 7,5 g/kg. Animals which received an initial sublethal doses of 5 g/kg and subsequently were dosed with lethal 10 to 15 g/kg at 15 and 30 days intervals showed lower susceptibility to the intoxication. Animals that were experimentally poisoned showed signs of disease about 48 h after dosing and died in approximately 54 h. Biochemical tests performed at 12 h intervals showed changes only in diseased animals. Serum levels of GGT started being higher 24 h after intoxication and kept enhancement until death. AST serum levels were significantly enhanced about 30 h after dosing and then, decreased to death. Glucose serum levels decreased close to the death. Necropsy lesions were similar in both, spontaneous and experimental cases and were most prominent in the livers, which had enhanced lobular pattern and yellowish areas with subcapsular pinpoint hemorrhages. Edema in body cavities, gallbladder wall, perirenal tissues, initial portion of duodenum, pancreas, and abomasum was also seen. Hemorrhages were also present in subcutaneous tissues, heart, and in mucosal and serosal membranes of the abdominal cavity. The principal histological finding was centrolobular to massive coagulative necrosis associated with centrolobular hemorrhage and congestion and periportal degeneration and tumefaction. There also were lymphoid depletion and necrosis in the germinative centres of lymph nodes, Peyer's patches, and white pulp of the spleen. Transmission electron microscopy showed necrotic hepatocytes and dilatation in the space of Disse and vascular endothelium. Severe proliferation of smooth endoplasmic reticulum was also seen in animal receiving more than one dosis of larvae. Thawed larvae were desiccated at 100°C for 24 h and administered to one rabbit that also became ill. Additional two rabbit were dosed with solid or liquid fractions of larvae and only which received the solid fraction died.

Key words: *Perreyia flavipes*, sawfly larval poisoning, liver necrosis, sheep and cattle.

1. INTRODUÇÃO

Intoxicações em ruminantes são responsáveis por perdas significativas em todo o Brasil. Um estudo realizado no Rio Grande do Sul revelou que as perdas por plantas tóxicas em bovinos situam-se entre 10% e 14% e em ovinos entre 15% e 20% (RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001). Dados do Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV – UFRGS) revelam que intoxicações por plantas foram responsáveis por 7,58% (43/567) das mortes em bovinos e 11,46% (25/218) em ovinos. As plantas hepatotóxicas foram o grupo responsável pelo maior número de mortes (PEDROSO *et al.* 2007).

Poucas hepatotoxicoses agudas são descritas em ovinos entre elas destacam-se as intoxicações por *Crotalaria retusa* (NOBRE *et al.*, 2005), *Myoporum laetum* (RAPOSO *et al.*, 1998), *Microcystis aeruginosa* (JACKSON *et al.*, 1984); *Sessea brasiliensis* (CHAULET; PEIXOTO; TOKARNIA, 1990); *Vernonia mollissima* (GAVA; PEIXOTO; TOKARNIA, 1987); *Wedelia glauca* (COLLAZO; RIET-CORREA, 1996) e *Xanthium cavanillesii* (LORETTI *et al.*, 1999).

Existem insetos pertencentes à ordem Himenóptera e subordem Symphyta que são semelhantes às vespas e mundialmente conhecidos pelo termo “sawfly”. A ingestão da fase larval destes insetos tem sido reportada como causa de intoxicações hepáticas agudas em animais domésticos em pelo menos quatro países. Na Austrália as larvas da *Lophyrotoma interrupta* (Pergidae) são descritas como causadoras de mortes em bovinos e ovinos (MCKENZIE; ROGERS; OELRICHS, 1985a). Na Dinamarca as larvas da *Arge pullata* (Argidae) após a ingestão ocasionaram mortes em ovinos, caprinos (THAMSBORG; JØRGENSEN; BRUMMERSTEDT, 1987) e em um cão (BRUMMERSTEDT *et al.*, 1987). Na região Sul do Brasil, existem relatos de intoxicações em suínos pela ingestão das larvas de *Perreyia lepida* (Pergidae) (CAMARGO, 1956). Intoxicação natural pelas larvas de *P. flavipes* foram descritas em bovinos no Uruguai (DUTRA *et al.*, 1997b) e no Rio Grande do Sul (SOARES; QUEVEDO; SCHILD, 2007). Experimentalmente a intoxicação foi reproduzida em suínos (SOARES *et al.*, 2001), bovinos e ovinos (DUTRA, *et al.*, 1997b).

Este trabalho teve por objetivo descrever as alterações clínicas, lesões macroscópicas e microscópicas da intoxicação natural e experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes* no Brasil. E em coelhos a reprodução experimental teve por objetivo determinar se a espécie pode ser utilizada para estudar diferentes aspectos da intoxicação.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. As “Sawflies”

Os insetos conhecidos como “sawfly” ou mosca serra (DUTRA, 1997a) pertencem à ordem Himenóptera e à subfamília Symphyta. Dentre todas as famílias existentes, apenas duas famílias, Pergidae e Argidae, são responsáveis por mortes em animais de produção. A família Pergidae é a terceira maior família cerca de 268 espécies ocorrem na América do Sul e 163 na Austrália (SCHMIDT; SMITH, 2006). Destas, uma espécie da Austrália, a *Lophyrotoma interrupta* (CALLOW, 1955; OELRICHS, 1982; MCKENZIE; ROGERS; OELRICHS, 1985a) e duas da América do Sul, *Perreyia lepida* (COSTA LIMA, 1941; CAMARGO, 1956) e *Perreyia flavipes* (DUTRA, *et al.*, 1997b), têm sido associadas a intoxicações de animais domésticos. A família Argidae é a segunda maior família e a maioria das espécies dessa família são encontradas na Europa e na América do Sul. Apenas uma espécie encontrada na Europa, *Arge pullata* tem sido relatada como tóxica para animais (SMITH, 1990).

A “sawfly” australiana *L. interrupta*, antigamente conhecida por *Pterygophorus analis*, *Pterygophorus interruptus* ou *Platypsecta interrupta* (SCHMIDT; SMITH, 2006) foi descrita pela primeira vez como a responsável por mortes em bovinos em um surto ocorrido no distrito de Marona em Queensland no ano de 1911 (ROBERTS, 1932 apud MCKENZIE; ROGERS; OELRICHS, 1985a; CALLOW, 1955). Pode-se encontrar o inseto na região leste da Austrália onde existem árvores de *Eucalyptus melanophloia* que é seu hospedeiro principal, e neste ambiente é feita a postura dos ovos e tem nas folhas a sua principal fonte de alimento. Em situações onde uma infestação maciça das larvas acaba com todas as folhas das árvores *E. melanophloia* de uma região, as larvas foram encontradas se alimentando de outras espécies de eucaliptos e também de acácias (MCKENZIE; ROGERS; OELRICHS, 1985a).

A *Arge pullata* foi descrita pela primeira vez em 1972 no sudoeste da Dinamarca. Os surtos de intoxicação têm sido associados a bosques de *Betula pendula* altamente infestados pelas larvas de *A. pullata*, que são comuns nas regiões marginais da Dinamarca (OLAECHEA *et al.*, 1991). As larvas de *A. pullata* se alimentam das folhas das árvores de *B. pendula* (THAMSBORG; JØRGENSEN; BRUMMERSTEDT, 1987).

No Brasil a primeira espécie de “sawfly” relatada como causa de mortes em animais foi a *Perreyia lepida* Brullé, anteriormente conhecida por *Brachytoma dorsuaria*,

Lophyroides dorsuaria ou *Paraperreyia dorsuaria* (SMITH, 1990; SCHMIDT; SMITH, 2006). O inseto tem sido observado em diferentes países da América do Sul, como a Argentina (na Província de Corrientes), Bolívia, Brasil (nos estados do Espírito Santo, Mato Grosso, Paraná, Pernambuco, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro, Santa Catarina e São Paulo), Paraguai, Uruguai e Venezuela (SMITH, 1990; SCHMIDT; SMITH, 2006). Diferentemente das “sawflies” encontradas na Austrália e na Dinamarca, este inseto aparentemente não fica restrito a nenhum tipo de planta específica. Os insetos já foram visualizados em plantas como *Senecio* sp. e *Baccharis* sp. (COSTA LIMA, 1941). As larvas de *P. lepida* já foram observadas se alimentando da vegetação (COSTA LIMA, 1941) e de fezes secas de bovinos (CAMARGO, 1956).

As larvas de *Perreyia flavipes* também se mostraram tóxicas para animais de produção, sendo encontradas na Argentina (nas Províncias de Buenos Aires e Entre Rios), no Brasil (nos Estados do Espírito Santo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná e Distrito Federal) e em diferentes localidades do Uruguai (SMITH, 1990; SCHMIDT; SMITH, 2006; DUTRA *et al.*, 1997b) (Figura 1). Antigamente *P. flavipes* era conhecida pelos nomes de *Brachytoma flavipes* e *Lophyroides flavipes* (SMITH, 1990; SCHMIDT; SMITH, 2006). O inseto também não apresenta nenhuma planta hospedeira conhecida, estudos sobre os hábitos do inseto demonstraram que as larvas de *P. flavipes* se alimentam de folhas jovens, vegetação senescente e fezes secas de bovinos (SOARES *et al.*, 2001).



Figura 1 – Mapa demonstrando a distribuição e surtos de intoxicação das larvas de *Perreyia flavipes* na América do Sul.

2.1.1. Ciclo de Vida das “Sawflies” tóxicas

Como ocorre com todos os insetos, o ciclo de vida das “sawflies” é separado em quatro diferentes estágios, a fase adulta, os ovos, a larva e a pupa. Todas as fases do ciclo de vida das “sawfly” são muito semelhantes entre si, tanto no tempo como aparência.

Lophyrotoma interrupta

Os adultos da *L. interrupta* apresentam coloração azul escura com amarelo, a fêmea mede cerca de 15 mm de comprimento e possui uma porção denticulada no abdômen que é usada para seccionar as folhas para a postura dos ovos. O macho é menor, mede cerca de 10 mm de comprimento. A postura é feita uma vez ao ano e os adultos têm um período de vida muito curto, cerca de 24 horas (CALLOW, 1955; MCKENZIE; ROGERS; OELRICHS, 1985a). Os adultos são frequentemente vistos logo após as chuvas de verão entre fevereiro e abril (CALLOW, 1955; OELRICHS, 1982).

Entre os meses de abril e maio a fêmea deposita aproximadamente 12 ovos de coloração verde clara nas folhas jovens de *Eucalyptus melanophloia*, o período de incubação dura cerca de 3 semanas e os ovos são sensíveis a condições de seca prolongada e podem morrer (CALLOW, 1955; OELRICHS, 1982; MCKENZIE; ROGERS; OELRICHS, 1985a).

As larvas emergem dos ovos e permanecem juntas em colônias que se tornam cada vez menores com o crescimento das larvas, sendo comum encontrar as larvas adultas sozinhas. As larvas apresentam uma coloração verde clara com pintas brancas, possuem um espinho caudal e a cabeça com uma coloração entre o marrom e o vermelho. No final do inverno e início da primavera, as larvas terminam o seu crescimento com a perda deste espinho caudal e então descem ao solo para pupar (CALLOW, 1955; OELRICHS, 1982; MCKENZIE; ROGERS; OELRICHS, 1985a).

No solo as larvas permanecem próximo à base da árvore e enterram-se no solo. Tecem um casulo produzindo uma secreção que une às partículas de terra, podendo permanecer assim por até um ano antes de completar seu desenvolvimento (CALLOW, 1955; OELRICHS, 1982).

Arge pullata

Os adultos emergem em junho, depositam seus ovos nas bordas de folhas jovens de *Betula pendula*. As larvas emergem entre julho e agosto, apresentam coloração amarela brilhante com linhas pretas tracejadas e medem aproximadamente 2,5 cm de comprimento (THAMSBORG; JØRGENSEN; BRUMMERSTEDT, 1987; OLAECHEA *et al.*, 1991). São vistas até o fim de setembro se alimentando das folhas de *B. pendula*, quando vão ao chão para pupar próximo à base da árvore (THAMSBORG; JØRGENSEN; BRUMMERSTEDT, 1987).

Perreyia lepida Brullé

Os adultos de *P. lepida* apresentam coloração preta com amarelo e são vistos no campo entre os meses de novembro e março, voando próximo a arbustos de *Senecio* sp. e *Baccharis* sp. (CAMARGO, 1956). As larvas apresentam coloração preta e medem cerca de 2,5 cm de comprimento. As larvas de *P. lepida* são vistas em grupos, se deslocando umas por cima das outras e se alimentam de vegetação e fezes de bovinos (COSTA LIMA, 1941; CAMARGO, 1956). As larvas se transformam em um estágio intermediário chamado de pré-pupa que apresenta coloração branco-amarelada. As pré-pupas tecem um casulo unindo as partículas de terra em uma estrutura de coloração enegrecida e se enterram no solo cerca de 5 cm da superfície. Após seis meses os adultos emergem dos casulos (CAMARGO, 1956).

Perreyia flavipes

Os adultos de *P. flavipes* têm ciclo de vida curto, apresentam uma coloração preta brilhante com as patas e detalhes alaranjados. Os adultos emergem em fevereiro e março e não se alimentam. As fêmeas voam pequenas distâncias, medem entre 8 e 10 mm de comprimento e vivem entre 18 e 36 horas morrendo logo após a postura. Os machos são mais ativos e voam distâncias maiores, medem entre 7,5 e 10 mm de comprimento e vivem entre 24 e 48 horas (DUTRA, 1997a; RIET-CORREA *et al.*, 1998; SOARES *et al.*, 2001).

A cópula ocorre no alto das folhas e as fêmeas depositam os ovos, de coloração branco-amarelada, sob a vegetação e imediatamente abaixo da superfície do solo em grupos de 100 a 400 ovos. O período de incubação dura entre 4 e 8 semanas (DUTRA, 1997a; RIET-CORREA *et al.*, 1998; SOARES *et al.*, 2001).

Os ovos começam a eclodir em março, e as larvas são vistas em grande quantidade nas pastagens entre maio e outubro. As larvas apresentam coloração preta brilhante, medem entre 17 e 22 mm de comprimento (Figura 2), apresentam três pares de patas verdadeiras nos segmentos anteriores e um par de patas falsas. Nas horas iniciais da manhã ou após as chuvas as larvas são vistas rastejando sobre a grama em colunas ordenadas entre 8 e 15 cm de comprimento, contendo entre 6 e 200 indivíduos (Figura 3) (DUTRA, 1997a; RIET-CORREA *et al.*, 1998; SOARES *et al.*, 2001).

As larvas tecem casulos de coloração preta, composto por secreções próprias e terra, as pupas então ficam enterradas a uma profundidade entre 3 e 10 cm da superfície do solo, permanecendo assim desde junho a janeiro do ano seguinte (DUTRA, 1997a; RIET-CORREA *et al.*, 1998; SOARES *et al.*, 2001).

O ciclo de vida da *Perreyia flavipes* pode ser observado na Figura 4.



Figura 2 – Larva de *Perreyia flavipes*. Coloração preta brilhante e medindo aproximadamente de 2 cm de comprimento



Figura 3 – Larvas de *Perreyia flavipes* agrupadas em coluna sobre a pastagem.

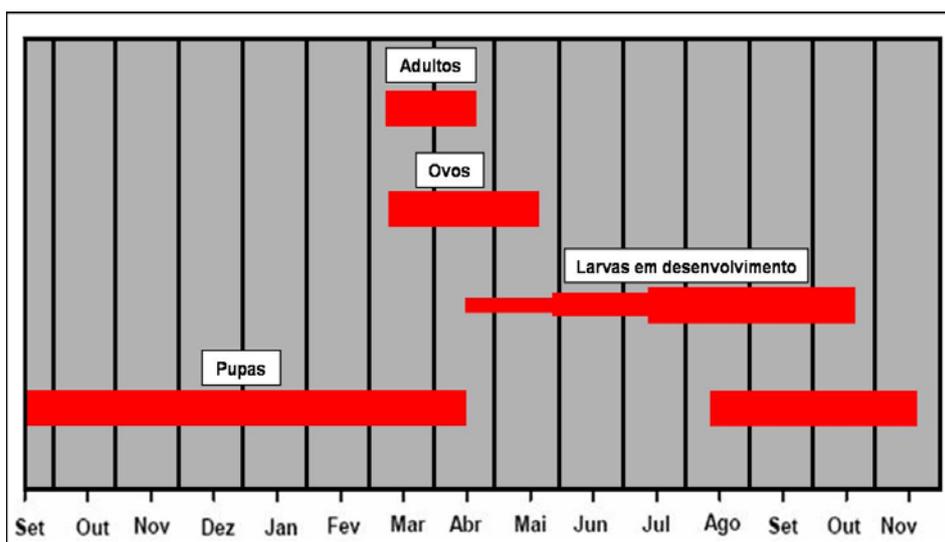


Figura 4 – Ciclo de vida da *Perreyia flavipes*. Fonte Dutra, 1997a. Modificado.

2.2. Intoxicação pelas Larvas das “Sawflies”

2.2.1. Epidemiologia

A maior parte dos relatos de intoxicações pelas larvas de *L. interrupta* provém de surtos que ocorrem em áreas com grande densidade das árvores de *Eucalyptus melanophloia*. No ano de 1979, na Austrália, aproximadamente 1800 bovinos morreram em 16 propriedades e em 1980 mais de 800 animais morreram em uma única propriedade na região de Queensland na Austrália após a ingestão das larvas de *L. interrupta*

(OELRICHS, 1982). As perdas contínuas representam grande problema econômico na criação de animais de produção deste país. O custo anual estimado com a redução na capacidade de lotação animal, medidas de controles e as mortes foi estimado em cerca de 1.100.000,00 dólares australianos ao ano (DADSWELL; ABBOTT; MCKENZIE, 1985).

Quando há grande quantidade de larvas nas árvores as folhas são rapidamente consumidas e muitas larvas ainda não estão prontas para pupar. Então por fome ou porque com redução na cobertura de folhas das árvores as larvas ficam mais expostas ao sol. Nas horas mais frescas do dia há grande migração de larvas em busca de alimento. As larvas descem pelo tronco formando grandes agrupamentos na base das árvores, ou há o acúmulo de grande quantidade de larvas mortas na base das árvores, que formam uma massa gelatinosa de coloração preta e odor muito forte. (CALLOW, 1955; OELRICHS, 1982; MCKENZIE; ROGERS; OELRICHS, 1985a)

Esses agrupamentos de larvas vivas ou as massas gelatinosas de larvas mortas são avidamente procuradas e consumidas pelos bovinos, que são vistos com frequência correndo em grupos indo de árvore em árvore e lutando entre si para ingerir as larvas (CALLOW, 1955; OELRICHS, 1982; MCKENZIE; ROGERS; OELRICHS, 1985a).

Foram levantadas diversas hipóteses para explicar os surtos ocorridos na Austrália. Acreditava-se que os bovinos procuravam as larvas por algum tipo de deficiência nutricional de fósforo ou de proteína, visto que, os surtos ocorrem na época do ano em que a pastagem está seca e a quantidade de proteína é menor. As larvas têm um teor de proteína em torno de 40% (CALLOW, 1955; MCKENZIE; ROGERS; OELRICHS, 1985a). Deficiências de fósforo e de proteína foram descartadas como motivo da procura pelas larvas, pois a suplementação tanto com fósforo como com proteína se mostraram ineficazes em prevenir a intoxicação. (CALLOW, 1955; MCKENZIE; ROGERS; OELRICHS, 1985a). Desta forma acredita-se que os bovinos possam simplesmente apreciar o sabor das larvas (MCKENZIE; ROGERS; OELRICHS, 1985a). Experimentos realizados com as larvas de *L. interrupta* demonstraram que a partir de 6 g/kg as larvas são tóxicas para bovinos (MCKENZIE, 1985b *apud* DUTRA, 1997a).

Na Dinamarca os casos de intoxicações pelas larvas de *Arge pullata* também estão associados a áreas onde a árvore hospedeira *Betula pendula* está presente em grande quantidade. Casos espontâneos foram relatados em ovinos (THAMSBORG; JØRGENSEN; BRUMMERSTEDT, 1987) e em um canino (BRUMMERSTEDT *et al.*, 1987), e experimentalmente em caprinos e ovinos (THAMSBORG; JØRGENSEN;

BRUMMERSTEDT, 1987). Experimentalmente as larvas de *A. pullata* mostraram-se tóxicas para ovinos em doses iguais ou superiores a 7,7 g/kg (THAMSBORG; JØRGENSEN; BRUMMERSTEDT, 1987). Em setembro de 1984 morreram 50 ovinos em um rebanho de 250 animais. As mortes iniciaram quatro dias após a entrada dos animais em um novo campo de pastejo, que posteriormente se verificou estar repleto de árvores de *B. pendula* altamente infestado pelas larvas (THAMSBORG; JØRGENSEN; BRUMMERSTEDT, 1987). Como as larvas australianas, as larvas de *A. pullata* podem ser vistas em grande número no chão entre agosto e setembro, aonde vão à procura de alimento ou para pupar (THAMSBORG; JØRGENSEN; BRUMMERSTEDT, 1987).

No Brasil intoxicações pelas larvas de *P. lepida* foram relatadas em suínos de criação extensiva do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (COSTA LIMA, 1941; CAMARGO, 1956).

Os surtos de intoxicação por *P. flavipes* também se caracterizam por grandes perdas de bovinos. No Uruguai, durante o ano de 1995 estima-se uma perda superior a 1000 bovinos (DUTRA, 1997a). Estudos realizados com suínos demonstraram que as larvas são palatáveis, pois após misturar as larvas à ração dos animais, estes passavam a ingerir espontaneamente pequenas quantidades de larvas ofertadas (SOARES *et al.*, 2001). Segundo Soares, Quevedo e Schild (2008) a maior quantidade de chuva nos períodos em que as larvas estão pupando e no período de incubação dos ovos foi fator determinante no número de larvas no campo no período do surto. No Uruguai os surtos espontâneos ocorreram em bovinos e possivelmente em ovinos (DUTRA *et al.*, 1997b). No Brasil há relatos de surtos em suínos (SOARES *et al.*, 2001) e bovinos (SOARES; QUEVEDO; SCHILD, 2008). Experimentalmente as larvas de *P. flavipes* mostraram-se tóxicas em doses superiores a 40 g/kg para bovinos (DUTRA *et al.*, 1997b) e 10 g/kg em ovinos e suínos (DUTRA *et al.*, 1997b; SOARES *et al.*, 2001).

2.2.2. Sinais Clínicos

Os sinais clínicos apresentados pelos bovinos, ovinos e caprinos intoxicados pelas larvas de *L. interrupta*, *A. pullata* e *P. flavipes* são muito semelhantes independentemente da espécie afetada, e praticamente todos os animais morrem em 48 horas (OELRICHS, 1982; THAMSBORG; JØRGENSEN; BRUMMERSTEDT, 1987; DUTRA *et al.*, 1997b).

Os sinais clínicos mais comumente relatados, mas inespecíficos, são principalmente fraqueza, depressão e anorexia (CALLOW, 1955; THAMSBORG; JØRGENSEN; BRUMMERSTEDT, 1987; DUTRA *et al.*, 1997b). Quase todos os casos estão associados a sinais neuromusculares como excitação, tremores de pescoço e cabeça, incoordenação, dificuldade de permanecer em estação e agressividade (ROBERTS, 1932 *apud* MCKENZIE; ROGERS; OELRICHS, 1985a; THAMSBORG; JØRGENSEN; BRUMMERSTEDT, 1987; DUTRA *et al.*, 1997b). Animais que sobrevivem por um período maior apresentam icterícia e fotossensibilização (DUTRA *et al.*, 1997b).

2.2.3. Achados de Necropsia

Os primeiros relatos de intoxicações por larvas de “sawfly” descrevem achados macroscópicos inespecíficos e muitas vezes ausência de achados. Relatos mais recentes descrevem que as lesões são semelhantes, variando apenas sua intensidade ou distribuição. Os achados mais freqüentes referem-se ao fígado com aumento do padrão lobular (MCKENZIE, 1985b *apud* DUTRA, 1997a; THAMSBORG; JØRGENSEN; BRUMMERSTEDT, 1987; DUTRA *et al.*, 1997b), e presença de líquido nas cavidades corporais em quantidades variadas (THAMSBORG; JØRGENSEN; BRUMMERSTEDT, 1987; DUTRA *et al.*, 1997b), edema de parede da vesícula biliar (MCKENZIE, 1985b *apud* DUTRA, 1997a; DUTRA *et al.*, 1997b) e edema do mesentério na região inicial do duodeno (DUTRA *et al.*, 1997b).

Outro achado freqüente são lesões hemorrágicas no fígado (THAMSBORG; JØRGENSEN; BRUMMERSTEDT, 1987; DUTRA *et al.*, 1997), coração (MCKENZIE, 1985b *apud* DUTRA, 1997a; THAMSBORG; JØRGENSEN; BRUMMERSTEDT, 1987; DUTRA *et al.*, 1997b), tecido subcutâneo (MCKENZIE, 1985b *apud* DUTRA, 1997a) e serosa de órgãos da cavidade abdominal (MCKENZIE, 1985b *apud* DUTRA, 1997a; RIET-CORREA *et al.*, 1998).

Bovinos com icterícia foram observados somente em intoxicações por *L. interrupta* e *P. flavipes* (MCKENZIE, 1985b *apud* DUTRA, 1997a; SOARES *et al.*, 2001).

Segmentos do corpo e cabeça das larvas foram encontrados no rumem de bovinos, ovinos, caprinos e suínos intoxicados pelas larvas de *L. interrupta*, *A. pullata* e *P. flavipes* (MCKENZIE, 1985b *apud* DUTRA, 1997a; THAMSBORG; JØRGENSEN; BRUMMERSTEDT, 1987; DUTRA *et al.*, 1997b; SOARES *et al.*, 2001).

2.2.4. Achados Histopatológicos

Histologicamente a principal lesão observada é necrose coagulativa centrolobular (MCKENZIE; ROGERS; OELRICHS, 1985a; THAMSBORG; JØRGENSEN; BRUMMERSTEDT, 1987; DUTRA *et al.*, 1997b), com hemorragia e congestão, podendo em casos mais severos apresentar-se de forma massiva (RIET-CORREA *et al.*, 1998). Circundando a área de necrose e na região periportal observa-se vacuolização de hepatócitos (THAMSBORG; JØRGENSEN; BRUMMERSTEDT, 1987; DUTRA *et al.*, 1997b).

Nos rins de animais intoxicados pelas larvas de “sawfly” observou-se nefrose e em alguns casos necrose de células do epitélio tubular, algumas vezes associadas a cilindros de proteína (MCKENZIE; ROGERS; OELRICHS, 1985a; THAMSBORG; JØRGENSEN; BRUMMERSTEDT, 1987; DUTRA *et al.*, 1997b). Outro achado freqüente, e que pode ser utilizado para diferenciar as intoxicações (MCKENZIE; ROGERS; OELRICHS, 1985a; THAMSBORG; JØRGENSEN; BRUMMERSTEDT, 1987; DUTRA *et al.*, 1997b).

2.2.5. Princípio Tóxico

Sabe-se atualmente que são dois os princípios tóxicos presente nas larvas de “sawfly”, mas primeiramente um princípio tóxico que recebeu o nome de lofirotomina foi isolado das larvas de *L. interrupta* (OELRICHS *et al.*, 1977). A lofirotomina é um octapeptídeo (OELRICHS *et al.*, 1977), que contém 4 D-aminoácidos (WILLIAMS; SANTIKARN; DE ANGELIS, 1983) e massa molecular de 1039 Da (KANNAN *et al.*, 1988). A DL₅₀ da lofirotomina é de 2 mg/kg, que foi comprovada por injeção intraperitoneal em camundongos (OELRICHS *et al.*, 1977). Posteriormente comprovou-se que a lofirotomina também estava presente nas larvas de *A. pullata* (KANNAN *et al.*, 1988) e *P. flavipes* (OELRICHS *et al.*, 1999). O segundo princípio ativo isolado das larvas de “sawfly” recebeu o nome de pergidina e foi encontrado nas larvas de *P. flavipes* (OELRICHS *et al.*, 1999). A pergidina é um heptapeptídeo que também contém 4 D-aminoácidos e também foi observado nas larvas de *L. interrupta* e *A. pullata* (OELRICHS *et al.*, 1999). Nas larvas de *L. interrupta* e *A. pullata* a lofirotomina é o princípio tóxico em maior quantidade, já nas larvas de *P. flavipes* a pergidina é que está em maior quantidade (OELRICHS *et al.*, 1999).

A presença desses D-aminoácidos em peptídeos é observada frequentemente em cianobactérias como a *Microcystis aeruginosa* e cogumelos como *Amanita* sp., todos eles com efeito hepatotóxico, no entanto não há conhecimento desses peptídeos sintetizados por animais (WILLIAMS; SANTIKARN; DE ANGELIS, 1983).

Acredita-se que a lofirotomina e a pergidina tenham capacidade de interagir com a membrana celular e íons metálicos nas células (WILLIAMS; SANTIKARN; DE ANGELIS, 1983). Experimentos com as larvas (THAMSBORG; JØRGENSEN; BRUMMERSTEDT, 1987) e com a toxina lofirotomina (CHONG *et al.*, 2002) mostraram-se tempo e dose dependentes. A lofirotomina mostrou-se semelhante à microcistina em peso molecular. Portanto em semelhança à microcistina, a lofirotomina tem peso molecular muito alto para ser transportada para dentro da célula por difusão facilitada, portanto é provável que a entrada na célula esteja ligada com o sistema de transporte ácido biliar (CHONG *et al.*, 2002).

Sabe-se que certas espécies de “sawfly” quando em condições de estresse liberam secreções que funcionam como proteção contra predadores (EISNER *et al.*, 1974 *apud* OELRICHS *et al.*, 1999). As larvas de *L. interrupta* liberam um líquido oleoso que demonstrou conter altas concentrações de lofirotomina, enquanto que nas árvores hospedeiras não foi detectado o princípio tóxico, sugerindo que a lofirotomina e a pergidina são biossintetizadas pelas próprias larvas (OELRICHS *et al.*, 1999).

2.2.6. Diagnóstico e Diagnóstico Diferencial

O diagnóstico das intoxicações pelas larvas de “sawfly” pode ser feito principalmente pela epidemiologia dos surtos, verificando a presença de grande quantidade das larvas na área de pastejo dos animais, aliado à presença das larvas no rúmen dos animais necropsiados e as lesões de necropsia e histopatologia.

As lesões encontradas na necropsia e histopatologia devem ser diferenciadas de outras causas de hepatotoxicoses agudas observadas em ruminantes, tais como *Cestrum corymbosum* var. *hirsutum* (GAVA *et al.*, 1991); *Cestrum intermedium* (GAVA; STOLF; VARASCHIN, 1996); *Cestrum laevigatum* (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1969; PEIXOTO *et al.*, 2000); *Cestrum parqui* (RIET-CORREA *et al.*, 1986); intoxicação aguda por *Crotalaria retusa* (NOBRE *et al.*, 2005); *Dodonea viscosa* (COLODEL *et al.*, 2003, CATTANI *et al.*, 2004); *Microcystis aeruginosa* (JACKSON *et al.*, 1984); *Myoporum laetum* (RAPOSO *et al.*, 1998); *Sessea brasiliensis*, (CANELLA;

TOKARNIA; DÖBEREINER, 1968, CHAULET; PEIXOTO; TOKARNIA, 1990); *Trema micrantha* (TRAVERSO *et al.*, 2002; TRAVERSO *et al.*, 2004); *Vernonia molissima* (DÖBEREINER; TOKARNIA; PURISCO, 1976, GAVA; PEIXOTO; TOKARNIA, 1987); *Vernonia rubricaulis*, (TOKARNIA; DÖBEREINER 1982); *Wedelia glauca* (COLLAZO; RIET-CORREA, 1996) e *Xanthium cavanillesii* (MENDEZ; SANTOS; RIET-CORREA, 1998; DRIEMEIER *et al.*, 1999; LORETTI *et al.*, 1999; COLODEL; DRIEMEIER; PILATI, 2000).

2.2.7. Controle

Devido à semelhança entre a lofirotomina e a toxina dos cogumelos do gênero *Amanitta* sp., levantou-se a hipótese de utilizar o mesmo antídoto empregado em intoxicações pelos cogumelos (OELRICHS *et al.*, 1982). Em humanos altas doses de penicilina, glicose e silimarina são o melhor tratamento que pode ser empregado em intoxicações pelos cogumelos de *Amanitta* sp. (PARISH; DOERING 1986 *apud* THAMSBORG *et al.*, 1996), pois é um complexo com ação hepatoprotetora. Experimentos realizados em ovinos demonstraram que o tratamento associado de penicilina, glicose e silimarina em animais intoxicados pelas larvas de *A. pullata* foi eficaz, e a silimarina foi parte essencial neste tratamento (THAMSBORG *et al.*, 1996). Entretanto, a sua utilização em casos naturais da intoxicação é impraticável, pois quando os animais demonstram sinais clínicos, já não é mais possível reverter a lesão (MCKENZIE; ROGERS; OELRICHS, 1985a).

É possível também desenvolver um método eficaz de imunização dos animais contra a toxina, entretanto o custo da vacina seria muito alto e sua eficácia seria pouco efetiva devido aos altos níveis de toxina presentes nos animais doentes (DADSWELL; ABBOTT; MCKENZIE, 1985).

Ainda não se conhecem os predadores naturais das larvas de “sawfly”, pássaros não são observados se alimentando das larvas (CALLOW, 1955), e quando as larvas foram fornecidas as aves, estas perderam o interesse após o rompimento das larvas (SOARES *et al.*, 2001).

Na Austrália duas medidas têm sido utilizadas com sucesso no controle das intoxicações pelas larvas de *L. interrupta*. A retirada dos animais das áreas infestadas e realocação em áreas de menor risco, que são áreas com menor quantidade das árvores hospedeiras. A remoção das árvores de *Eucalyptus melanophloia* principal hospedeira do

inseto é também um método de controle (DADSWELL; ABBOTT; MCKENZIE, 1985). Na Dinamarca, a retirada dos animais dos bosques de bétula (*Betula pendula*) infestadas pelas larvas de *A. pullata* também diminuiu o número de mortes gradualmente até cessar. No Uruguai a retirada dos animais dos campos infestados pelas larvas e alojamento em campos livres mostrou-se eficaz na redução das mortes (DUTRA *et al.*, 1997b). Uma medida sugerida, para reduzir o número de larvas em estágios iniciais nos campos é a aração do solo (SOARES *et al.*, 2001).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Casos Espontâneos

3.1.1. Ovinos

Seis ovinos Texel, de uma propriedade no município de Encruzilhada do Sul no Rio Grande do Sul foram necropsiados e amostras de fígado, rim pulmão, baço, coração, linfonodos, encéfalo, intestinos e compartimentos gástricos foram coletados para exame histológico, fixados em formalina 10% tamponada, processados pelas técnicas histológicas de rotina e corados com hematoxilina e eosina (HE).

3.1.2. Bovinos

Foram recebidos no SPV-UFRGS fragmentos de cérebro e fígado fixados em formalina 10% referente à necropsia de três bovinos provenientes de uma propriedade no município de Sombrio em Santa Catarina. Em visita à propriedade foram necropsiados três animais. Foram coletadas amostras de fígado, rim, baço, coração, pulmão, encéfalo, linfonodos, intestino e pró-ventrículos. Os tecidos foram fixados em formalina 10% tamponada, processados pelas técnicas histológicas de rotina e corados com hematoxilina e eosina (HE).

3.2. Intoxicação Experimental

Agrupamentos de larvas de *Perreyia flavipes* foram coletados na propriedade no município de Encruzilhada do Sul onde ocorreu o surto espontâneo em ovinos e na propriedade no município de Sombrio onde ocorreu o surto espontâneo em bovinos.

As larvas de *Perreyia flavipes* foram, algumas administradas frescas aos ovinos e o restante conservadas a uma temperatura de -20° C. Cerca de 2 kg de larvas foram desidratadas em estufa a uma temperatura de 60° C por 24 horas e posteriormente armazenadas

3.2.1. Intoxicação Experimental em Ovinos

Utilizaram-se sete ovinos com idade de aproximadamente 2 anos e que foram numerados de 1 a 7. As larvas de *Perreyia flavipes* foram administradas via oral por meio de uma seringa de 20 ml com a ponta cortada. Os ovinos 1,2 e 3 receberam diferentes quantidades de larvas frescas, enquanto os Ovinos 4, 5 e 6 receberam larvas congeladas. Os ovinos 1 e 4 receberam a dose única de 10g/kg de peso vivo. O ovino 2 recebeu a dose única de 7,5 g/kg de peso e o ovino 3 recebeu a dose única de 5 g/kg de peso vivo. O ovino 5 recebeu doses graduais de 5g/kg, 10g/kg e 15 g/kg de peso vivo, das larvas de *P. flavipes* com intervalo de 30 dias entre cada dose, e o ovino 6 recebeu doses graduais de 5g/kg, 10g/kg e 15 g/kg de peso vivo, das larvas com o intervalo de 15 dias entre cada dose. O ovino 7 foi utilizado como controle. Um resumo das doses administradas na intoxicação experimental de ovinos encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes* em ovinos. Peso corporal, dose em g/kg de peso vivo, larvas/ conservação e dose total fornecida.

Ovino	Peso kg do ovino	Dose 1 (g/kg)	Dose 2 (g/kg)	Dose 3 (g/kg)	Larvas/ conservação	Dose total (g)
1	39,5 kg	10 g/kg	-	-	Frescas	395 g
2	32,5 kg	7,5 g/kg	-	-	Frescas	244 g
3	40,7 kg	5 g/kg	-	-	Frescas	205 g
4	28,5 kg	10 g/kg	-	-	Congeladas	285 g
5*	40,7 kg	5 g/kg	10 g/kg	15g/kg	Congeladas	1221 g
6**	38,6 kg	5 g/kg	10 g/kg	15g/kg	Congeladas	1158 g
7	41,6 kg	-	-	-	Controle	Controle

* Animal que recebeu 3 doses fracionadas das larvas de *P. flavipes* com intervalo de 30 dias entre cada dose.

** Animal que recebeu 3 doses fracionadas das larvas de *P. flavipes* com intervalo de 15 dias entre cada dose.

Foram realizadas biópsias hepáticas no ovino de número 6 para estudo com microscopia eletrônica, imediatamente antes da administração das larvas (amostra 1) e 7 dias após a administração da dose 1 (Amostra 2) e da dose 2 (amostra 3).

Todos os ovinos eram mantidos em baias de alvenaria e alimentados com feno de alfafa e ração comercial.

Exame Clínico e Laboratorial

Os animais foram acompanhados diariamente, avaliando-se os parâmetros de frequência respiratória, frequência cardíaca, movimentos ruminais e temperatura retal a intervalos de aproximadamente 12 horas.

A cada 12 horas foram realizadas coletas de sangue em tubos sem anticoagulante para dosagem de gama-glutamil transferase (GGT) e aspartato aminotransferase (AST), e em tubos com EDTA/fluoreto para dosagem do nível de glicose. Amostras de sangue para dosagem de GGT, AST e glicose foram coletadas de cada animal antes da administração das larvas de *Perreyia flavipes* para controle sérico.

3.2.2. Intoxicação Experimental em Coelhos

Foram utilizados três coelhos machos com cerca de 5 meses de idade e aproximadamente 2 kg de peso, numerados de 1 a 3. Foram administradas em dose única via oral por meio de sonda uretral nº 8, as larvas congeladas e desidratadas moídas.

O coelho 1 recebeu larvas de *Perreyia flavipes* desidratadas, equivalente a 60 g/kg de peso corporal de larvas frescas. As larvas foram moídas e diluídas em 50 ml de água.

Os coelhos 2 e 3 receberam larvas de *P. flavipes* congeladas. O equivalente a 150 g de larvas descongeladas foram esmagadas e coadas utilizando-se uma peneira de cozinha, ficando separadas a porção sólida e líquida. Ambas as porções resultaram em aproximadamente 64 g de material final obtido.

O coelho 2 recebeu a porção líquida equivalente a 150g de larvas, enquanto o coelho 3 recebeu a porção sólida das larvas trituradas. Um resumo das doses administradas na intoxicação experimental de coelhos encontra-se na Tabela 2.

Tabela 2 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes* em coelhos. Larvas administradas em dose única. Peso corporal, larvas, dose em g/kg de peso vivo e dose total fornecida.

Coelho	Peso kg	Larvas	Dose g/kg	Dose total (g)
1	2 kg	Inteiras e desidratadas	40 g/kg	80 g*
2	1,5 kg	Porção sólida	43 g/kg	64 g*
3	1,4 kg	Porção líquida	46 g/kg	64 g*

* Equivalente às larvas frescas.

3.3. Coleta e Processamento de Material

Os animais dos experimentos foram necropsiados imediatamente após a morte, sendo coletados fragmentos de fígado, rim, pulmão, coração, encéfalo, medula espinhal, linfonodos, baço, tonsila, ceco, intestinos, compartimentos gástricos e músculos esqueléticos. Os órgãos coletados foram fixados em formalina 10% tamponada, e processados com as técnicas histológicas de rotina e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (HE) (ALLEN, 1992).

4. RESULTADOS

4.1. Casos Espontâneos em Ovinos

Durante os meses de junho e julho de 2006 ocorreram diversas mortes em ovinos de uma propriedade no município de Encruzilhada do Sul no Rio Grande do Sul. As intoxicações ocorreram quando os ovinos estavam em uma área de 40 hectares com boa oferta de pastagem. Em um rebanho de 175 ovinos da raça Texel morreram, no período um total de 25 ovinos, sendo 11 adultos e 14 cordeiros. No mesmo campo onde estavam os ovinos havia 11 bovinos e nenhum adoeceu.

Inúmeros agrupamentos de aproximadamente 150 ou mais larvas de *Perreyia flavipes*, de coloração preta, medindo aproximadamente 2,5cm de comprimento foram observadas em distribuição aleatória no campo onde estavam alocados os animais. Nenhuma planta hepatotóxica foi encontrada na propriedade.

4.1.1. Sinais Clínicos

Segundo os funcionários do estabelecimento, os sinais clínicos foram semelhantes em todos os animais que morreram. Os ovinos mais afetados apresentaram apatia extrema nas últimas 24-36 horas antes da morte. Em alguns animais foram observados fraqueza, depressão e tremores musculares.

4.1.2. Achados Patológicos

Lesões Macroscópicas

Os seis ovinos necropsiados estavam em bom estado nutricional. Havia petéquias e sufusões, no tecido subcutâneo e fâscias musculares e leve icterícia.

Os ovinos apresentavam hidrotórax, hidropericárdio, ascite e edema na região do abomaso, duodeno, pâncreas, rins e vesícula biliar. Na superfície subpericárdica, vesícula biliar e na mucosa do abomaso havia equimoses e sufusões.

O conteúdo do final do cólon, do ceco e do reto apresentava-se ressecado e com muco aderido juntamente com estrias de sangue.

O fígado estava amarelado com hemorragias petéquiias distribuídas de forma aleatória no parênquima e acentuação do padrão lobular tanto na superfície capsular como na de corte.

No rúmen dos dois ovinos encontraram-se restos das larvas de *Perreyia flavipes* em meio ao conteúdo (Figura 5).



Figura 5 – Intoxicação espontânea pelas larvas de *Perreyia flavipes*. Ovinos. Restos de larvas (seta) em meio ao conteúdo ruminal.

Histopatologia

A principal lesão histopatológica encontrada nos ovinos necropsiados foi observada no fígado, sendo caracterizada por necrose coagulativa centrolobular ou massiva, difusa e acentuada, com hemorragias multifocais aleatórias. Os hepatócitos necróticos apresentavam tumefação com citoplasma claro e núcleos tumefeitos com a cromatina densa e marginal, picnose ou cariólise.

No baço de um dos animais foram observadas depleção linfóide e necrose difusa e acentuada dos centros germinativos, com os linfócitos apresentando núcleos picnóticos e cariorrexia. Nas placas de Peyer e linfonodos mesentéricos observou-se necrose difusa e acentuada em folículos linfóides. Os rins apresentavam vacuolização do epitélio tubular difusa e discreta.

4.2. Casos Espontâneos em Bovinos

Em agosto de 2006, em uma propriedade no município de Sombrio em Santa Catarina, morreram 17 de um rebanho de 280 bovinos. As mortes ocorreram em apenas um lote de 77 animais de raça mista com idade entre 1 e 2 anos, pastoreando em uma área de 90 hectares (P1).

Os bovinos permaneceram nesta área por um período de 30 dias, quando alguns animais começaram a apresentar fezes muito secas e dois foram encontrados mortos. Os bovinos foram então transferidos para outro piquete (P2) onde ainda morreram mais 15 animais em um período de 5 dias após a transferência, cessando as mortes após esse período.

Em vistoria pelos piquetes 1 e 2 não foram observadas plantas de potencial hepatotóxico conhecidas. No piquete 1 foram encontrados inúmeros agrupamentos de larvas de *Perreyia flavipes* em meio à areia e pastagem. Os bovinos eram observados pelos responsáveis uma vez ao dia e nenhum animal doente foi detectado.

4.2.1. Achados Patológicos

Lesões macroscópicas

Os seis bovinos necropsiados estavam em bom estado nutricional. Durante a necropsia foram observadas petéquias e sufusões, no tecido subcutâneo. Os bovinos apresentavam ascite e edema na região do abomaso, duodeno, pâncreas e vesícula biliar. Na superfície subpericárdica e na mucosa do abomaso havia equimoses e sufusões. Na porção final do cólon, no ceco e no reto o material fecal apresentava-se ressecado e com pequena quantidade de muco.

O fígado apresentava-se amarelado com petéquias distribuídas de forma aleatória no parênquima e acentuação do padrão lobular tanto na superfície capsular como ao corte (Figura 6). No rúmen dos três bovinos foram encontrados restos das larvas de *P. flavipes* em meio ao conteúdo.



Figura 6 – Intoxicação espontânea pelas larvas de *Perreyia flavipes*. Bovino. Fígado. Superfície de corte com acentuação do padrão lobular.

Histopatologia

A principal lesão microscópica nos bovinos necropsiados foi observada no fígado e era caracterizada por necrose coagulativa da região centrolobular e mediozonal, difusa e acentuada, com congestão, hemorragia e infiltrado mononuclear centrolobular. Os hepatócitos da região periportal apresentavam tumefação e vacuolização. Havia necrose individual e raras inclusões eosinofílicas circulares no citoplasma caracterizando alterações degenerativas citoplasmáticas.

Na polpa branca do baço, nos linfonodos, nas tonsilas, em placas de Peyer e nódulos linfóides do intestino grosso foram observadas depleção linfóide e necrose difusa e acentuada de centros germinativos.

4.3. Intoxicação Experimental em Ovinos

Os ovinos de numero 1, 2 e 4 que receberam doses únicas de larvas de *P. flavipes* e mostraram sinais clínicos que evoluíram gradativamente entre 41 e 61 horas após o início da administração das larvas até a morte. Um resumo da evolução dos principais sinais clínicos até a morte na intoxicação experimental em ovinos que receberam dose única é apresentado na Tabela 3. O Ovino 6 apresentou sinais clínicos leves dois dias após a administração de 10 g/kg das larvas de *P. flavipes*. Este mesmo ovino após o recebimento de uma dose de 15g/kg desenvolveu em 56 horas sinais clínicos graves e

morreu 67 horas após a administração. Um resumo da evolução dos principais sinais clínicos até a morte na intoxicação experimental em ovinos que receberam doses fracionadas está representada na Tabela 4.

O ovino 3 que recebeu dose única das larvas, o número 5 que recebeu doses fracionadas das larvas e o número 7 utilizado como controle não apresentaram sinais clínicos da intoxicação pelas larvas de *P. flavipes*.

Tabela 3 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes* em ovinos. Evolução do quadro clínico e morte dos animais que receberam dose única.

Ovino	Dose g/kg	Tempo entre administração e sinais clínicos (TSC)	Tempo entre administração e a morte (TM)
1	10 g/kg	47 horas	61 horas
2	7,5 g/kg	-	41 horas
3	5 g/kg	Não adoeceu	-
4	10 g/kg	42 horas	49 horas
7	Controle	-	-

Tabela 4 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes* em ovinos. Evolução do quadro clínico e morte dos animais que receberam doses fracionadas.

Ovino	Tempo entre a administração da dose de 5 g/kg e os sinais clínicos	Tempo entre a administração da dose de 10 g/kg e os sinais clínicos	Tempo entre a administração da dose de 15 g/kg e os sinais clínicos	Tempo entre administração da dose de 15 g/kg e a morte
5	Não adoeceu	Não adoeceu	Não adoeceu	-
6	Não adoeceu	Sinais leves – 48 horas	Sinais graves – 56 horas	67 horas
7	Controle	-	-	-

4.3.1. Sinais Clínicos

Os sinais clínicos apresentados pelos animais experimentais foram muito semelhantes, havendo apenas pequenas diferenças na intensidade e no tempo de aparecimento e evolução clínica. Os animais apresentavam diminuição do apetite, que progredia para parada completa da alimentação. Os movimentos ruminiais diminuíam até cessar completamente.

Inicialmente os ovinos apresentavam apatia leve com relutância em se movimentar e muitas vezes ptose. Também apresentavam tremores leves da cabeça e do pescoço que se tornavam mais intensos com o passar do tempo. Os animais também começavam a apresentar um ressecamento das fezes que por vezes era acompanhada de estrias de sangue e muco.

Com a evolução do quadro clínico os tremores tornavam-se mais freqüentes e generalizados, os animais começavam a apresentar dificuldade em permanecer em estação, acabando por adotarem posição de decúbito esternal e não conseguindo mais se levantar.

Ao final do quadro clínico os animais entravam em decúbito lateral, apresentando salivação intensa e por vezes nistagmo lateral. Próximo à morte estes animais apresentaram redução na freqüência respiratória, opistótono, movimentos de pedalagem e vocalização. Por fim, os animais entraram em estado comatoso curto seguido da morte.

4.3.2. Achados Laboratoriais

Os ovinos 2 e 4 apresentaram aumento dos níveis de GGT após 24 horas da intoxicação, esses valores continuaram a aumentar até o momento da morte. O ovino 1 apresentou aumento dos níveis de GGT antes mesmo das 18 horas após a intoxicação que também foram se elevando até a morte. O ovino 3 apresentou aumento dos níveis de GGT entre 60 e 78 horas após a intoxicação, voltando ao nível próximo ao normal. O ovino 7, utilizado como controle, manteve os níveis séricos de GGT dentro dos valores normais. Os resultados dos níveis sanguíneos de gamaglutamil transferase (GGT) estão representados na Figura 7 e Tabela 5.

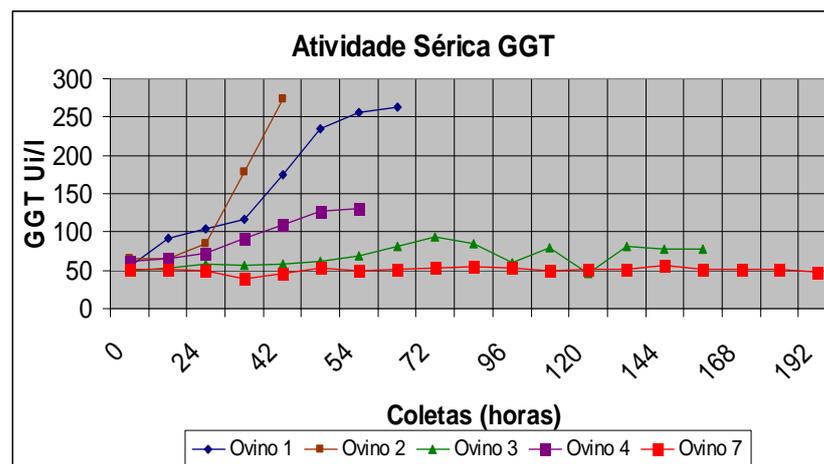


Figura 7 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes* em ovinos. Valores de atividade sérica de GGT.

Tabela 5 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes* em ovinos. Valores de atividade sérica de GGT. (valores normais para ovinos 20 a 52 U/l).

Horas da coleta	Ovino 1 10 g/kg	Ovino 2 7,5 g/kg	Ovino 3 5 g/kg	Ovino 4 10 g/kg	Ovino 7 Controle
0	54,5	65,9	48,8	62,4	51,2
18	92,55	64,5	53,2	64,9	50,45
24	103,6	84,2	57,6	72,2	49,7
30	116,8	178,85	56,1	91,15	39,5
42	175,4	273,5	58,7	110,1	45,95
48	234	-	61,3	127,5	52,4
54	256,7	-	68,8	131	49,8
60	263,6	-	81,15	-	51,4
72	-	-	93,5	-	53
78	-	-	83,9	-	54,6
96	-	-	60,8	-	52,5
102	-	-	79,9	-	49,9
120	-	-	45,3	-	51,2
126	-	-	81,6	-	50,6
144	-	-	77	-	56,4
150	-	-	76,8	-	52
168	-	-	-	-	50,9
174	-	-	-	-	52
192	-	-	-	-	48,5

Os ovinos 1 e 2 apresentaram aumento dos níveis de AST após 24 horas da intoxicação, estes valores continuaram a aumentar até cerca de 30 horas após a intoxicação, quando começaram a decair até o momento da morte. O ovino 4 apresentou aumento dos níveis de AST após 30 horas da intoxicação, decaindo um pouco depois das 48 horas, mas ainda se mantendo em níveis elevados. O ovino 3 apresentou aumento dos níveis de AST entre 60 e 100 horas após a intoxicação, voltando após, ao nível normal. Os resultados dos níveis sanguíneos de aspartato aminotransferase (AST) estão representados na Figura 8 e Tabela 6.

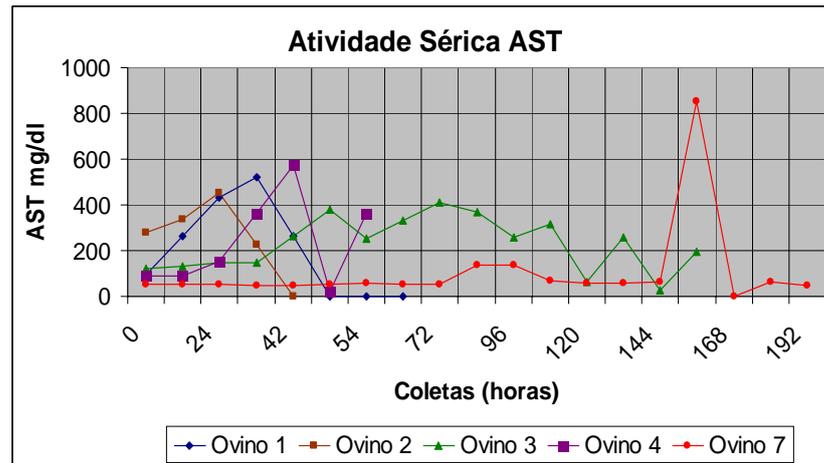


Figura 8- Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes* em ovinos. Valores de atividade sérica de AST.

Tabela 6 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes* em ovinos. Valores de atividade sérica de AST. (valores normais para ovinos 60 a 280 mg/dl)

Horas da coleta	Ovino 1 10 g/kg	Ovino 2 7,5 g/kg	Ovino 3 5 g/kg	Ovino 4 10 g/kg	Ovino 7 Controle
0	94	277	120	89	52
18	261,5	335	133	89	52
24	429	455	146	151	52
30	523	227,5	146	363,5	47
42	261,5	0	261,5	576	49,5
48	0	-	377	20	52
54	0	-	251	361	57
60	0	-	332	-	54,5
72	-	-	413	-	52
78	-	-	371	-	136
96	-	-	256	-	136
102	-	-	314	-	68
120	-	-	62	-	57
126	-	-	256	-	57
144	-	-	26	-	62
150	-	-	193	-	853
168	-	-	-	-	0
174	-	-	-	-	62
192	-	-	-	-	47

Os ovinos que adoeceram apresentaram uma queda nos níveis séricos de glicose pouco antes da morte. O ovino 1 teve a redução dos níveis de glicose cerca de 24 horas antes da morte, o ovino 2 cerca de 8 horas antes e o ovino 4 cerca de 12 horas antes. Os ovinos 3 e 7 não apresentaram mudanças nos níveis de glicose. Os resultados dos níveis sanguíneos de glicose estão representados na Figura 9 e Tabela 7.

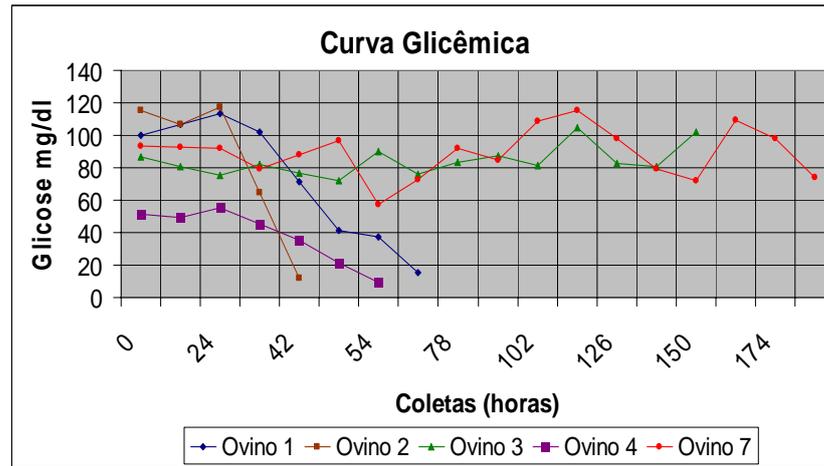


Figura 9 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes* em ovinos. Curva glicêmica.

Tabela 7 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes* em ovinos. Dosagem sérica de glicose. (valores normais para ovinos 50 a 80 mg/dl)

Horas da coleta	Ovino 1 10 g/kg	Ovino 2 7,5 g/kg	Ovino 3 5 g/kg	Ovino 4 10 g/kg	Ovino 7 Controle
0	99,7	115,2	86,5	51,3	93,4
18	106,55	106,7	80,95	49,4	92,6
24	113,4	117,1	75,4	55,5	91,8
30	102,1	64,45	81,7	45,5	79,2
42	71,6	11,8	76,75	35,5	87,85
48	41,1	-	71,8	21,6	96,5
54	37,1	-	89,7	9,6	57,4
72	15,3	-	76,2	-	73
78	-	-	83,4	-	92
96	-	-	87,3	-	84,7
102	-	-	81,3	-	108,9
120	-	-	104,8	-	115,6
126	-	-	82,6	-	98
144	-	-	80,9	-	79,4
150	-	-	101,7	-	72,3
168	-	-	-	-	109,1
174	-	-	-	-	97,9
192	-	-	-	-	73,8

4.3.3. Achados Patológicos

Lesões Macroscópicas

Em todos os ovinos que apresentaram sinais clínicos da intoxicação e morreram, as lesões macroscópicas foram semelhantes. A principal lesão foi observada no fígado que se apresentava aumentado de volume e com acentuação do padrão lobular tanto na superfície capsular (Figura 10) como na superfície de corte (Figura 11). No ovino 1 o

fígado apresentava coloração amarelada difusa enquanto o ovino 4 apresentou congestão e áreas de coloração amarelada. Os ovinos 1 e 4 apresentaram também hemorragias subcapsulares difusas por todo o órgão (Figura 12).

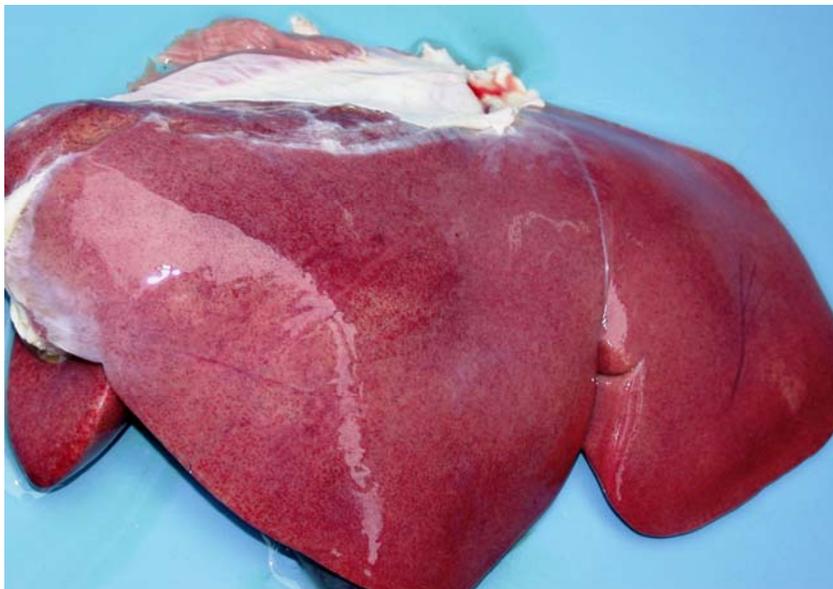


Figura 10 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes*. Ovino 2. Fígado. Acentuação do padrão lobular na superfície capsular.



Figura 11 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes*. Ovino 1. Fígado. Acentuação do padrão lobular na superfície de corte.

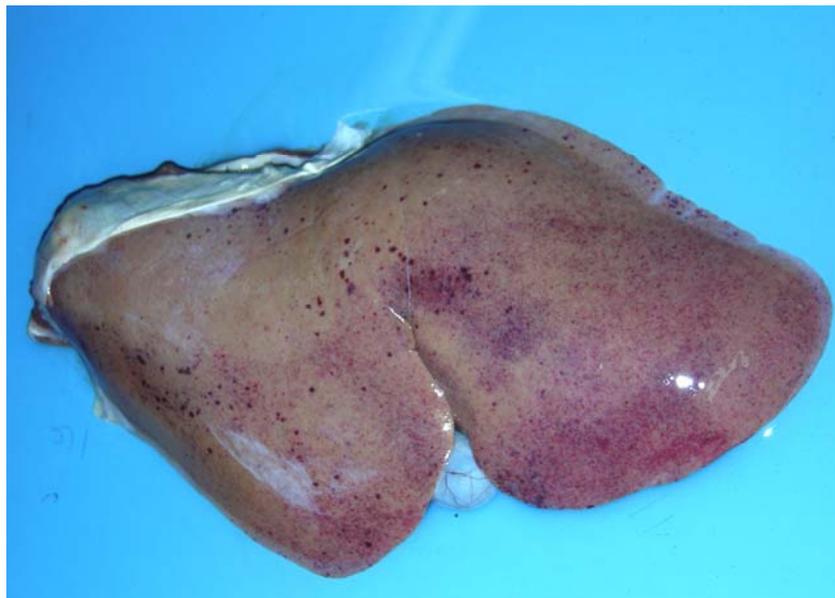


Figura 12 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes*. Ovino 2. Fígado. Áreas de coloração amarelada e hemorragias subcapsulares multifocais.

Em todos os animais foi observado na abertura da cavidade abdominal, quantidades variadas de líquido de coloração de amarela a alaranjada. No ovino 1 o líquido ascítico coagulava quando exposto ao ar (Figura 13). Nos ovinos 2, 4 e 6 observou-se, também, moderada quantidade de líquido amarelado na cavidade torácica.



Figura 13 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes*. Ovino 1. Cavidade abdominal. Líquido ascítico coagulado.

Edema gelatinoso foi observado em diversos órgãos dos ovinos necropsiados. Edema na região inicial do duodeno, pâncreas e abomaso foi observado em grau acentuado no ovino 1 e moderado no ovino 6. Edema da região perirrenal foi observado nos ovinos 2, 4 e 6 (Figura 14). Todos os ovinos tinham a vesícula biliar distendida e com edema moderado na parede.

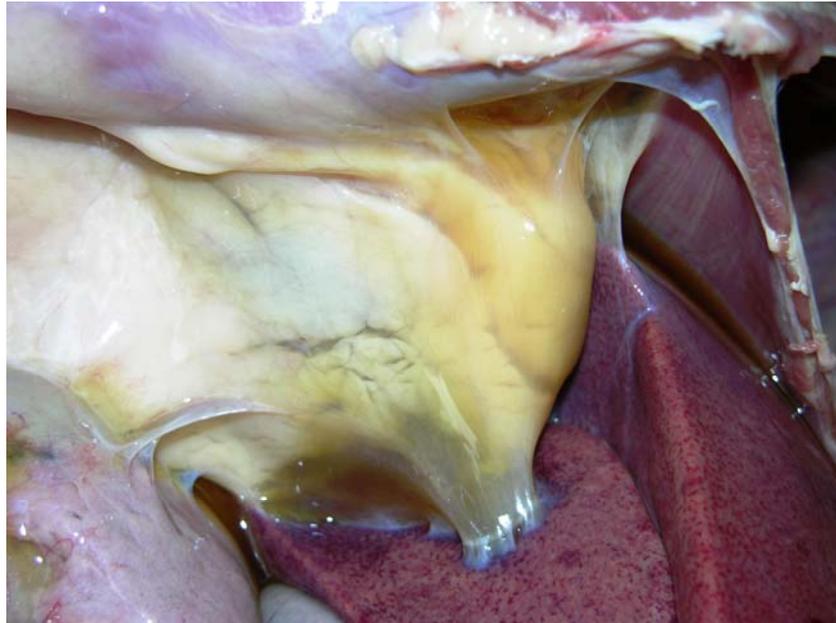


Figura 14 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes*. Ovino 2. Edema da região perirrenal.

Petéquias e sufusões foram observadas no epicárdio e endocárdio de todos o ovinos experimentais que morreram. O Ovino 2 apresentou hemorragias na mucosa do ceco e intestino delgado, enquanto o Ovino 1 apresentou petéquias em pouca quantidade no tecido subcutâneo, petéquias e sufusões na mucosa da bexiga e hemorragia acentuada no epíplon e mesentério. Icterícia discreta foi observada no tecido subcutâneo do ovino 1.

O Ovino 1 apresentou ressecamento do conteúdo do cólon espiral com moderada quantidade de muco e estrias de sangue. No reto também havia o ressecamento do conteúdo e a presença de sangue.

No abomaso de todos os ovinos havia moderada quantidade de líquido de coloração marrom e com discretos coágulos. Na mucosa do abomaso dos ovinos 4 e 6 foram observadas algumas petéquias, enquanto no ovino 1 as petéquias foram observadas em grande quantidade por toda a superfície mucosa do órgão.

Em todos os ovinos, restos da cabeça e do corpo das larvas de *P. flavipes* foram observadas misturadas com o conteúdo ruminal (Figura 15). Os restos das larvas eram

melhor identificados quando o conteúdo ruminal foi misturado à água, situação esta em que os pedaços de larvas boiavam (Figura 16).



Figura 15 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes*. Ovinho 1. Fragmentos de larvas de coloração preta (seta) em meio ao conteúdo ruminal.



Figura 16 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes*. Ovinho 1. Visualização de fragmentos de larvas e restos de conteúdo ruminal boiando após mistura com água.

Histopatologia

A principal lesão encontrada em todos os ovinos necropsiados foi observada no fígado, caracterizada por necrose coagulativa da região centrolobular (Figura 17 e 18) ou massiva, associada à congestão e hemorragia centrolobular. Os hepatócitos necróticos apresentavam tumefação com citoplasma claro e núcleos tumefeitos com a cromatina densa e marginal ou com núcleo em picnose, cariorrexia ou cariólise. Algumas células não apresentavam núcleos.

Na região periportal observava-se uma ou duas camadas de células íntegras, mas na maioria observava-se tumefação e vacuolização. Algumas vezes observava-se necrose individual de hepatócitos e raras inclusões eosinofílicas circulares no citoplasma de hepatócitos caracterizando alterações degenerativas citoplasmáticas. Foi observado dentro de hepatócitos tumefeitos e no interstício pigmento acastanhado, possivelmente devido à colestase.

Alterações degenerativas foram observadas nos rins dos animais necropsiados. Na maioria dos animais estas alterações eram discretas, observando-se apenas tumefação das células tubulares. No ovino 2 as alterações observadas foram mais graves, além da tumefação das células tubulares haviam alterações nucleares como picnose e desaparecimento de núcleo, além de formação de diversos cilindros protéicos na luz de túbulos.

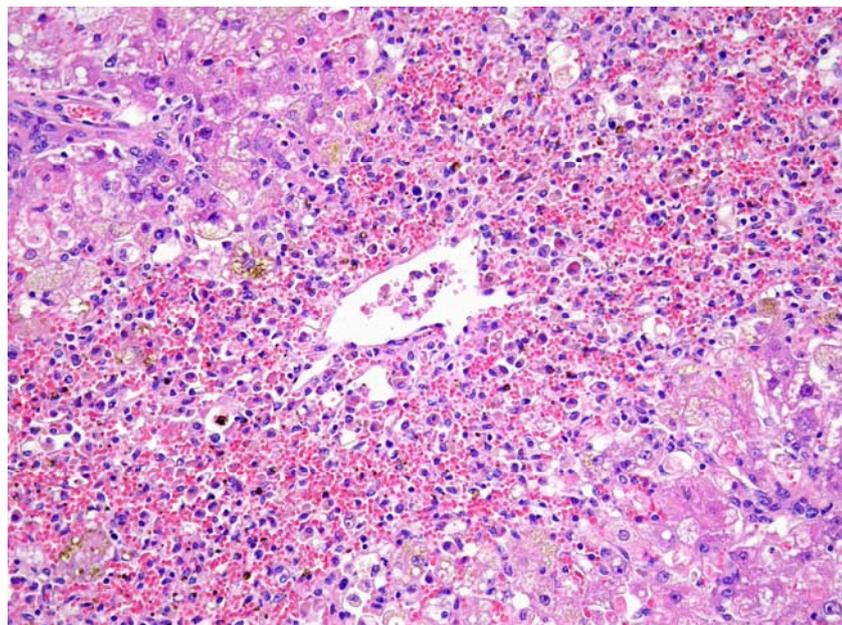


Figura 17 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes*. Ovino 1. Fígado. Necrose coagulativa da região centrolobular e mediozonal associada à hemorragia centrolobular e tumefação de hepatócitos adjacentes. HE, obj 10.

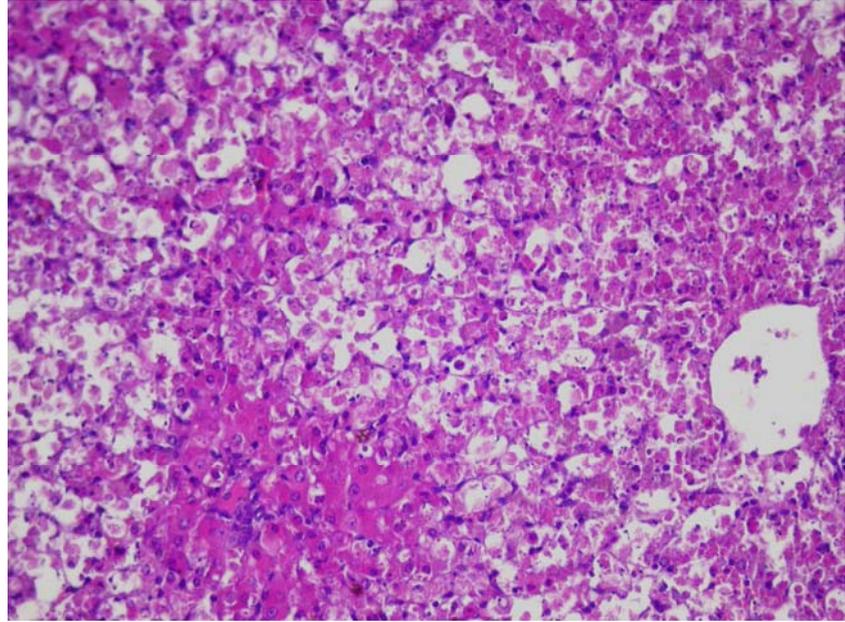


Figura 18 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes*. Ovino 4. Fígado. Necrose coagulativa da região centrolobular e mediozonal. HE, obj 20.

Outra alteração constante em todos os ovinos intoxicados foi observada nos folículos linfóides, no baço, nas tonsilas, nos linfonodos e nas placas de Peyer que apresentavam depleção linfóide moderada associada à necrose difusa e acentuada dos centros germinativos (Figura 19). Nos ovinos 1 e 4 havia também infiltrado leve de histiócitos. O baço do ovino 4 apresentou moderada hemossiderose.

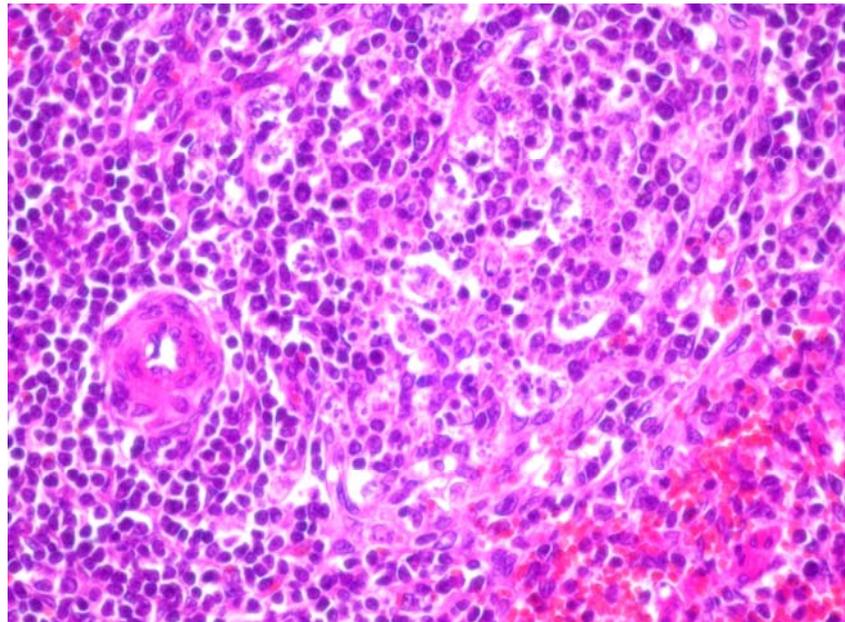


Figura 19 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes*. Ovino. Baço. Necrose focalmente extensa de centros germinativos da polpa branca. HE, obj 40.

Microscopia Eletrônica

Na análise ultraestrutural das biopsias realizadas no ovino 6 observou-se, na amostra 2 (realizada 7 dias após primeira dose de 5g/kg) acentuada proliferação de retículo endoplasmático liso (REL), alguns hepatócitos apresentavam corpúsculos de grânulos fibrilares. Na amostra 3 (realizada 7 dias após a segunda dose de 10g/kg) apresentavam intensa hiperplasia de REL (Figura 20), hepatócitos com núcleo em cariorrexia, e acentuada dilatação dos espaços de Disse e da luz de capilares sinusóides.

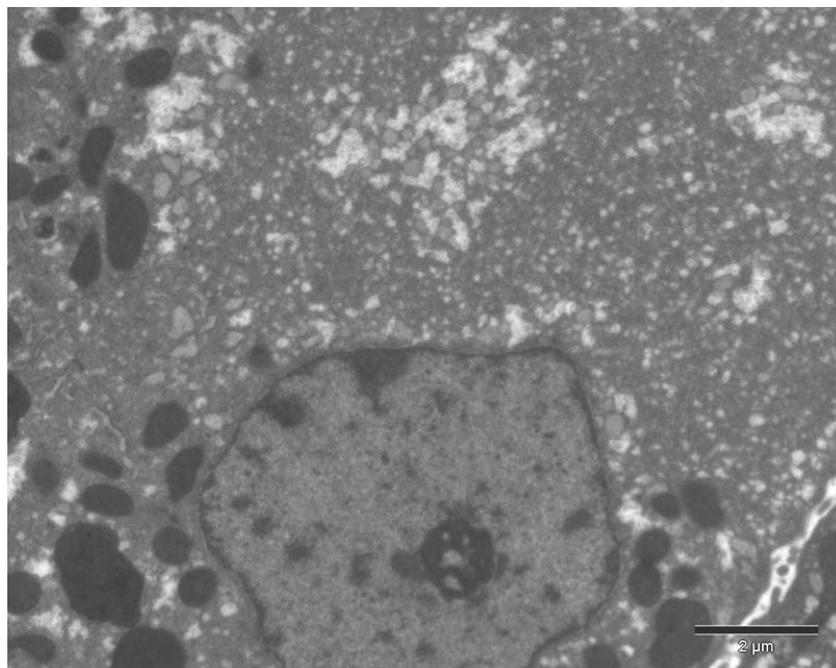


Figura 20 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes*. Ovino 6. Fígado. Microscopia eletrônica. Hiperplasia do REL

4.4. Intoxicação Experimental em Coelhos

Os Coelhos 1 e 3 que receberam as larvas de *P. flavipes* inteiras e desidratadas apresentaram sinais de apatia em torno de 51 horas após e morreram 64 horas após a administração. O Coelho 2 não apresentou nenhum sinal de intoxicação. O resumo das doses administradas e evolução da enfermidade na intoxicação experimental de coelhos encontra-se na Tabela 8.

Tabela 8 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes* em coelhos. Evolução do quadro clínico e morte.

Coelho	Peso kg	Tempo entre administração e sinais clínicos (TSC)	Tempo entre administração e a morte (TM)
1	2 kg	51 horas	64 horas
2	1,5 kg	Não adoeceu	Não morreu
3	1,4 kg	51 horas	64 horas

4.4.1. Achados Clínicos e Achados Patológicos

Sinais Clínicos

Os coelhos intoxicados apresentaram poucos sinais clínicos, os Coelhos 1 e 3 apresentaram redução no consumo de ração e apatia quando comparados ao Coelho 2.

Necropsia

Os achados de necropsia dos coelhos intoxicados foram semelhantes aos achados nos ovinos, no entanto em menor grau. Os Coelhos 1 e 3 apresentaram o fígado levemente aumentado de tamanho, coloração mais pálida e acentuação do padrão lobular tanto na superfície capsular como na superfície de corte. Em ambos os coelhos a vesícula biliar estava repleta, e no Coelho 1 havia edema leve da parede da vesícula.

No Coelho 1 não foram observadas hemorragias, enquanto que no Coelho 3 petéquias foram observadas no tecido subcutâneo e petéquias e sufusões foram observadas na superfície dos rins e pulmões (Figura 21).

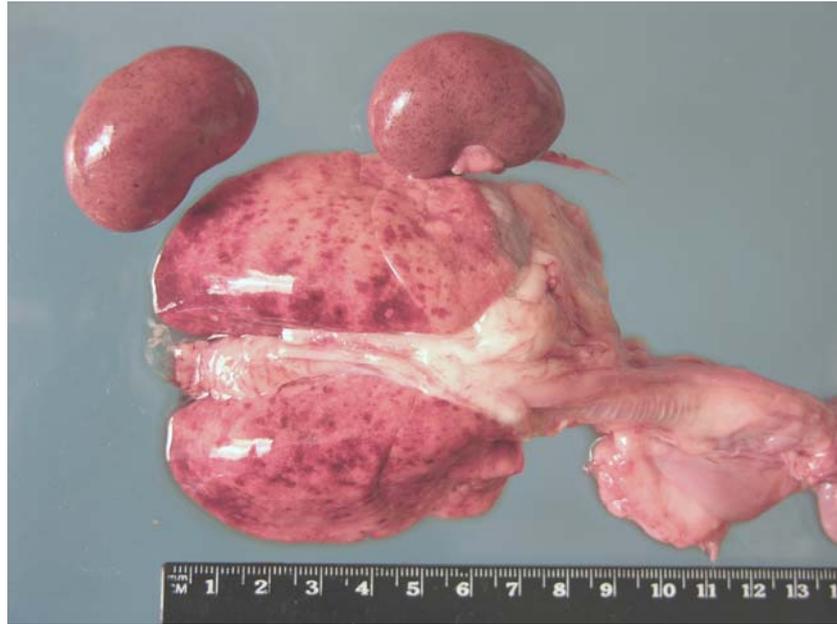


Figura 21 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes*. Coelho 3. Petéquias e sufusões difusas e acentuadas nos rins e pulmões.

Histopatologia

A principal alteração histopatológica observada nos coelhos necropsiados caracterizou-se por necrose centrolobular difusa associada à hemorragia hepática. Hepatócitos da região periportal encontravam-se íntegros, mas vacuolizados na região que circundava a necrose (Figura 22).

Nos rins haviam alterações degenerativas do epitélio tubular com perda de proteína. No coração, cérebro, cerebelo, músculo esquelético e pulmão do Coelho 3 havia congestão e hemorragia moderada.

Nos coelhos, da mesma maneira que nos ovinos, observou-se nos folículos linfóides de linfonodos, placas de Peyer do intestino e polpa branca do baço, necrose dos centros germinativos. Diferentemente dos ovinos não havia rarefação linfóide e a lesão necrótica era menos pronunciada.

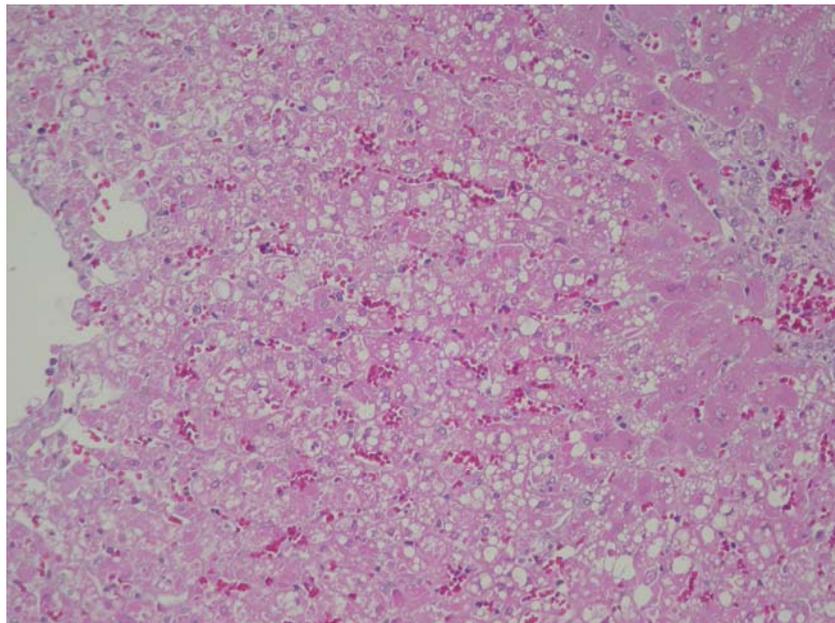


Figura 22 – Intoxicação experimental pelas larvas de *Perreyia flavipes*. Coelho 3. Fígado. Necrose centrolobular difusa associada à congestão. Hepatócitos da região periportal encontravam-se íntegros, mas com grande número de vacuolizações. HE, obj 20.

5. DISCUSSÃO

O estudo demonstrou a toxicidade das larvas de *P. flavipes* para coelhos ovinos. A menor dose de larvas de *P. flavipes* tóxica para ovinos foi de 7,5 g/kg de peso corporal, o que é semelhante a resultados encontrados em intoxicações pelas larvas de *L. interrupta* e *A. pullata* em que a dose tóxica foi de 6 g/kg e 7,7 g/kg respectivamente (MCKENZIE, 1985b *apud* DUTRA, 1997a; THAMSBORG, 1987). A dose tóxica para ovinos se mostrou mais baixa que a dose para bovinos, 40 g/kg (DUTRA *et al.*, 1997b) e semelhante a suínos, 10 g/kg (SOARES *et al.*, 2001). As larvas de *P. flavipes* mesmo após o congelamento a -20° C ou a dessecação a 100° por 24 horas, por um período de até seis meses apresentaram a mesma toxicidade que as larvas frescas.

Os sinais clínicos e a patologia observada nos experimentos correspondem a um quadro de insuficiência hepática aguda e são semelhantes aos descritos nas intoxicações pelas larvas de *P. flavipes* em bovinos e suínos (DUTRA *et al.*, 1997b, SOARES *et al.*, 2001).

Existem no Brasil diversas causas de insuficiência hepática aguda de origem tóxica que afetam ruminantes. Os sinais clínicos e os achados de necropsia semelhantes. O conhecimento das causas tóxicas e a inspeção do local são fundamentais para se chegar ao diagnóstico da intoxicação. Portanto no diagnóstico diferencial devem ser incluídas intoxicações por *Cestrum corymbosum var. hirsutum* em bovinos (GAVA *et al.*, 1991); *Cestrum intermedium* em bovinos (GAVA; STOLF; VARASCHIN, 1996); *Cestrum laevigatum* em bovinos (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1969) e caprinos (PEIXOTO *et al.*, 2000); *Cestrum parqui* em bovinos (RIET-CORREA *et al.*, 1986); *Crotalaria retusa* em ovinos (NOBRE *et al.*, 2005); *Dodonea viscosa* em bovinos (COLODEL *et al.*, 2003, CATTANI *et al.*, 2004); *Microcystis aeruginosa* em ovinos (JACKSON *et al.*, 1984); *Myoporum laetum* em bovinos e ovinos (RAPOSO *et al.*, 1998); *Sessea brasiliensis*, em bovinos (CANELLA; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1968, CHAULET; PEIXOTO; TOKARNIA, 1990) ovinos e caprinos experimental (CHAULET; PEIXOTO; TOKARNIA, 1990); *Trema micrantha* em bovinos (TRAVERSO *et al.*, 2004) e caprinos (TRAVERSO *et al.*, 2002); *Vernonia molissima*, em bovinos (DÖBEREINER; TOKARNIA; PURISCO, 1976, GAVA; PEIXOTO; TOKARNIA, 1987) ovinos (GAVA; PEIXOTO; TOKARNIA, 1987) e *Vernonia rubricaulis*, em bovinos (TOKARNIA; DÖBEREINER 1982); *Wedelia glauca* em ovinos e bovinos (COLLAZO; RIET-CORREA, 1996); *Xanthium cavanillesii* em bovinos

(MENDEZ; SANTOS; RIET-CORREA, 1998; DRIEMEIER *et al.*, 1999; COLODEL; DRIEMEIER; PILATI, 2000) e ovinos (MENDEZ; SANTOS; RIET-CORREA, 1998; LORETTI *et al.*, 1999).

A evolução clínica dos ovinos intoxicados teve curso muito semelhante a outras intoxicações hepáticas agudas, os animais começaram a apresentar sinais clínicos entre 42 e 47 horas após intoxicação e morreram entre 41 e 61 horas após a ingestão das larvas.

Os ovinos intoxicados apresentaram sinais clínicos como anorexia, atonia ruminal, apatia, depressão, salivação intensa, redução da frequência respiratória que não específicos de intoxicação hepática aguda, mas que também ocorrem em outras hepatotoxicoses agudas como *C. corymbosum* var. *hirsutum* (GAVA *et al.*, 1991), *C. intermedium* (GAVA *et al.*, 1996), *C. laevigatum* (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1969; PEIXOTO *et al.*, 2000), *C. parqui* (RIET-CORREA *et al.*, 1986), *C. retusa* (NOBRE *et al.*, 2005), *D. viscosa* (COLODEL *et al.*, 2003; CATTANI *et al.*, 2004), *M. aeruginosa* (JACKSON *et al.*, 1984), *M. laetum* (RAPOSO *et al.*, 1998), *S. brasiliensis* (CANELLA; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1968; CHAULET; PEIXOTO; TOKARNIA, 1990), *T. micrantha* (TRAVERSO *et al.*, 2002; TRAVERSO *et al.*, 2004), *V. molissima* (GAVA; PEIXOTO; TOKARNIA, 1987; DÖBEREINER; TOKARNIA; PURISCO, 1976), *V. rubricaulis* (TOKARNIA; DÖBEREINER 1982), *W. glauca* (COLLAZO; RIET-CORREA, 1996), *X. cavanillesii* (MENDEZ; SANTOS; RIET-CORREA, 1998; DRIEMEIER *et al.*, 1999; LORETTI *et al.*, 1999; COLODEL; DRIEMEIER; PILATI, 2000).

Fezes de consistência ressecada e algumas vezes apresentando estrias de sangue e/ou muco foram observadas nos ovinos intoxicados experimentalmente. Essa alteração é frequentemente observada nas intoxicações que cursam com insuficiência hepática aguda, como *C. intermedium* (GAVA *et al.*, 1996), *C. laevigatum* (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1969), *C. parqui* (RIET-CORREA *et al.*, 1986), *M. laetum* (RAPOSO *et al.*, 1998), *S. brasiliensis* (CHAULET; PEIXOTO; TOKARNIA, 1990), *V. molissima* (GAVA; PEIXOTO; TOKARNIA, 1987; DÖBEREINER; TOKARNIA; PURISCO, 1976). Entretanto em intoxicações por *C. corymbosum* var. *hirsutum* (GAVA *et al.*, 1991) os animais apresentavam estrias de sangue nas fezes, mas estas apresentavam-se pastosas ao invés de ressecadas. Já nos casos de intoxicações por *C. laevigatum* (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1969), *C. retusa* (NOBRE *et al.*, 2005) e *X. cavanillesii* (LORETTI *et al.*, 1999) os animais somente apresentavam sangue em meio a fezes normais.

Distúrbios neuromusculares como relutância em se movimentar, tremores de cabeça e pescoço, dificuldade de permanecer em estação, tremores generalizados, decúbito esternal ou lateral, nistagmo, opistótono, movimentos de pedalagem e convulsões que foram observados nos ovinos intoxicados também são muito freqüentes nas intoxicações por *C. corymbosum* var. *hirsutum* (GAVA *et al.*, 1991), *C. intermedium* (GAVA *et al.*, 1996), *C. laevigatum* (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1969), *C. parqui* (RIET-CORREA *et al.*, 1986), *C. retusa* (NOBRE *et al.*, 2005), *D. viscosa* (COLODEL *et al.*, 2003; CATTANI *et al.*, 2004), *M. aeruginosa* (JACKSON *et al.*, 1984), *M. laetum* (RAPOSO *et al.*, 1998), *S. brasiliensis* (CANELLA; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1968; CHAULET; PEIXOTO; TOKARNIA, 1990), *T. micrantha* (TRAVERSO *et al.*, 2002; TRAVERSO *et al.*, 2004), *V. molissima* (GAVA; PEIXOTO; TOKARNIA, 1987; DÖBEREINER; TOKARNIA; PURISCO, 1976), *V. rubricaulis* (TOKARNIA; DÖBEREINER 1982), *W. glauca* (COLLAZO; RIET-CORREA, 1996), *X. cavanillesii* (MENDEZ; SANTOS; RIET-CORREA, 1998; DRIEMEIER *et al.*, 1999; LORETTI *et al.*, 1999; COLODEL; DRIEMEIER; PILATI, 2000). Esses sinais podem ser resultado de muitos fatores, incluindo a hipoglicemia e fatores detoxificantes do sistema hepático que possam ter sido comprometidos (RADOSTITS *et al.*, 2002). Contudo, não foram observadas alterações microscópicas no sistema nervoso central dos animais estudados. Os resultados dos níveis séricos dos ovinos intoxicados experimentalmente demonstraram severa hipoglicemia nos animais doentes. Em casos de necrose hepática zonal o fígado pode-se tornar insuficiente para manter a glicemia normal, que é um efeito direto da necrose hepática e pode ser a causa dos sinais neuromusculares (COLODEL; DRIEMEIER; PILATI, 2000; STALKER, HAYES, 2007).

A análise sanguínea demonstrou haver lesão hepática através dos valores de GGT e AST que se encontravam elevados. Segundo Cornelius, (1989) valores elevados da atividade de GGT estão associados à necrose hepática, e os valores de AST podem auxiliar no diagnóstico mesmo não sendo únicos do fígado. O Ovino 7, utilizado como controle, manteve seus níveis séricos de AST dentro dos valores normais, a não ser por um valor (150 horas) que ficou muito superior aos demais valores, o que provavelmente deve-se a problemas na amostra analisada. Esse perfil sérico de AST apresentado pelos animais doentes foi muito semelhante ao obtido por Soares (2001) em suínos.

Durante a necropsia dos animais intoxicados experimentalmente e espontaneamente, presença de líquido na cavidade abdominal, cavidade torácica e no

saco pericárdico foram observadas. Estas alterações são descritas em diferentes causas de intoxicação hepática aguda como, por exemplo, *C. parqui* (RIET-CORREA *et al.*, 1986), *C. retusa* (NOBRE *et al.*, 2005), *M. aeruginosa* (JACKSON *et al.*, 1984), *S. brasiliensis* (CHAULET; PEIXOTO; TOKARNIA, 1990), *T. micrantha* (TRAVERSO *et al.*, 2004), *V. molissima* (GAVA; PEIXOTO; TOKARNIA, 1987), *W. glauca* (COLLAZO; RIET-CORREA, 1996), *X. cavanillesii* (MENDEZ; SANTOS; RIET-CORREA, 1998; DRIEMEIER *et al.*, 1999; LORETTI *et al.*, 1999; COLODEL; DRIEMEIER; PILATI, 2000).

Edema foi observado na porção inicial do duodeno, nos rins, no pâncreas, nas pregas do abomaso e na parede da vesícula biliar. Na região do duodeno e pâncreas de ruminantes edema também tem sido descrito em outras hepatotoxicoses como intoxicação por *C. intermedium* (GAVA *et al.*, 1996), *C. Parqui* (RIET-CORREA *et al.*, 1986), *D. viscosa* (COLODEL *et al.*, 2003; CATTANI *et al.*, 2004), *M. laetum* (RAPOSO *et al.*, 1998), *T. micrantha* (TRAVERSO *et al.*, 2004), *X. cavanillesii* (DRIEMEIER *et al.*, 1999; COLODEL; DRIEMEIER; PILATI, 2000); no abomaso *C. parqui* (RIET-CORREA *et al.*, 1986), *V. molissima* (GAVA; PEIXOTO; TOKARNIA, 1987), *X. cavanillesii* (DRIEMEIER *et al.*, 1999). Edema perirrenal é observado em intoxicações por *M. aeruginosa* (JACKSON *et al.*, 1984), *T. micrantha* (TRAVERSO *et al.*, 2004), *V. molissima* (GAVA; PEIXOTO; TOKARNIA, 1987), *X. cavanillesii* (DRIEMEIER *et al.*, 1999; LORETTI *et al.*, 1999). Em intoxicações por *X. cavanillesii* (MENDEZ; SANTOS; RIET-CORREA, 1998), o edema foi observado na pelve renal. Edema da parede da vesícula biliar frequentemente observado em casos tóxicos por *C. corymbosum* var. *hirsutum* (GAVA *et al.*, 1991), *C. intermedium* (GAVA *et al.*, 1996), *C. laevigatum* (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1969; PEIXOTO *et al.*, 2000), *C. parqui* (RIET-CORREA *et al.*, 1986), *C. retusa* (NOBRE *et al.*, 2005), *D. viscosa* (COLODEL *et al.*, 2003; CATTANI *et al.*, 2004), *M. aeruginosa* (JACKSON *et al.*, 1984), *M. laetum* (RAPOSO *et al.*, 1998), *S. brasiliensis* (CANELLA; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1968; CHAULET; PEIXOTO; TOKARNIA, 1990), *T. micrantha* (TRAVERSO *et al.*, 2002; TRAVERSO *et al.*, 2004), *V. molissima* (GAVA; PEIXOTO; TOKARNIA, 1987; DÖBEREINER; TOKARNIA; PURISCO, 1976), *V. rubricaulis* (TOKARNIA; DÖBEREINER 1982), *W. glauca* (COLLAZO; RIET-CORREA, 1996), *X. cavanillesii* (MENDEZ; SANTOS; RIET-CORREA, 1998; DRIEMEIER *et al.*, 1999; LORETTI *et al.*, 1999; COLODEL; DRIEMEIER; PILATI, 2000). Não há estudos sobre o mecanismo de ação da lofirotomina e pergidina, mas a característica do edema observado nos animais

intoxicados, ou seja, principalmente edemas cavitários, sugerem um aumento da permeabilidade vascular. Essa possibilidade é reforçada pelo fato destes líquidos cavitários coagularem quando expostos ao ar, o que também é visto em intoxicações por *Xanthium cavanillesii* (LORETTI *et al.*, 1997) e *Microcystis aeruginosa* (JACKSON *et al.*, 1985).

Petéquias e sufusões foram encontradas no endocárdio e epicárdio, tecido subcutâneo, fâscias musculares, mucosa da vesícula biliar, mucosa do abomaso, mucosa do intestino delgado e ceco. Petéquias e sufusões no epicárdio e endocárdio podem ser observadas em outras intoxicações hepáticas agudas, como por exemplo, *C. corymbosum* var. *hirsutum* (GAVA *et al.*, 1991), *C. intermedium* (GAVA *et al.*, 1996), *C. laevigatum* (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1969; PEIXOTO *et al.*, 2000), *C. parqui* (RIET-CORREA *et al.*, 1986), *C. retusa* (NOBRE *et al.*, 2005), *D. viscosa* (COLODEL *et al.*, 2003; CATTANI *et al.*, 2004), *M. aeruginosa* (JACKSON *et al.*, 1984), *S. brasiliensis* (CANELLA; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1968; CHAULET; PEIXOTO; TOKARNIA, 1990), *T. micrantha* (TRAVERSO *et al.*, 2002; TRAVERSO *et al.*, 2004), *V. molissima* (GAVA; PEIXOTO; TOKARNIA, 1987; DÖBEREINER; TOKARNIA; PURISCO, 1976), *V. rubricaulis* (TOKARNIA; DÖBEREINER 1982), *W. glauca* (COLLAZO; RIET-CORREA, 1996), *X. cavanillesii* (DRIEMEIER *et al.*, 1999; COLODEL; DRIEMEIER; PILATI, 2000); nas serosas da cavidade abdominal, *C. corymbosum* var. *hirsutum* (GAVA *et al.*, 1991), *C. laevigatum* (DÖBEREINER *et al.*, 1969), *C. retusa* (NOBRE *et al.*, 2005), *D. viscosa* (COLODEL *et al.*, 2003; CATTANI *et al.*, 2004), *T. micrantha* (TRAVERSO *et al.*, 2002; TRAVERSO *et al.*, 2004), *V. molissima* (GAVA; PEIXOTO; TOKARNIA, 1987; DÖBEREINER; TOKARNIA; PURISCO, 1976), *X. cavanillesii* (DRIEMEIER *et al.*, 1999); no tecido subcutâneo, *C. laevigatum* (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1969), *C. parqui* (RIET-CORREA *et al.*, 1986), *C. retusa* (NOBRE *et al.*, 2005), *M. aeruginosa* (JACKSON *et al.*, 1984), *M. laetum* (RAPOSO *et al.*, 1998), *T. micrantha* (TRAVERSO *et al.*, 2004), *X. cavanillesii* (DRIEMEIER *et al.*, 1999); nas fâscias musculares, *C. intermedium* (GAVA *et al.*, 1996), *C. laevigatum* (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1969), *M. aeruginosa* (JACKSON *et al.*, 1984). Na vesícula biliar, *C. laevigatum* (DÖBEREINER *et al.*, 1969; Peixoto *et al.*, 2000), *M. laetum* (RAPOSO *et al.*, 1998), *S. brasiliensis* (CANELLA; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1968), *V. molissima* (DÖBEREINER; TOKARNIA; PURISCO, 1976), *W. glauca* (COLLAZO; RIET-CORREA, 1996), *X. cavanillesii* (DRIEMEIER *et al.*, 1999; LORETTI *et al.*, 1999); na mucosa da bexiga, *C.*

laevigatum (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1969), *V. molissima* (DÖBEREINER; TOKARNIA; PURISCO, 1976), *X. cavanillesii* (DRIEMEIER *et al.*, 1999). Na mucosa do intestino delgado, intestino grosso ou abomaso petéquias e sufusões são observadas em intoxicações por *C. corymbosum* var. *hirsutum* (GAVA *et al.*, 1991), *C. intermedium* (GAVA *et al.*, 1996), *C. laevigatum* (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1969), *C. parqui* (RIET-CORREA *et al.*, 1986), *C. retusa* (NOBRE *et al.*, 2005), *M. aeruginosa* (JACKSON *et al.*, 1984), *M. laetum* (RAPOSO *et al.*, 1998), *S. brasiliensis* (CANELLA; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1968), *V. molissima* (GAVA; PEIXOTO; TOKARNIA, 1987; DÖBEREINER; TOKARNIA; PURISCO, 1976), *X. cavanillesii* (COLODEL; DRIEMEIER; PILATI, 2000). Essas hemorragias são esperadas em casos de intoxicações hepáticas agudas, pois parte do processo de hemostasia dependem do funcionamento normal do fígado (BADYLAK, 1988). Existe um consumo intra-hepático dos fatores de coagulação nos locais onde há a lesão endotelial. E a deficiência no fígado em suprir os fatores de coagulação tem menor influência no surgimento das hemorragias (STALKER, HAYES, 2007) Uma lesão vascular possibilitaria o extravasamento do sangue, causando as hemorragias observadas. Algumas hepatotoxinas são descritas como causadoras de lesão endotelial, entre elas *Xanthium cavanillesii* (LORETTI *et al.*, 1997) e *Microcystis aeruginosa* (JACKSON *et al.*, 1985), em ambos os casos pode-se observar hemorragias em diversos órgãos.

Um animal apresentou icterícia discreta. Em intoxicações por *C. retusa* (NOBRE *et al.*, 2005), *D. viscosa* (CATTANI *et al.*, 2004), *M. laetum* (RAPOSO *et al.*, 1998) e *T. micrantha* (TRAVERSO *et al.*, 2004) icterícia pode ser observada em alguns animais.

Nos casos de intoxicações pelas larvas de *P. flavipes* observou-se o fígado com coloração amarelada ou focos amarelados no parênquima, hemorragias subcapsulares e acentuação do padrão lobular com áreas vermelhas escuras deprimidas entremeadas com áreas claras que são observados, também, em outras hepatotoxicoses. Fígado com acentuação do padrão lobular pode ser observado em intoxicações por *C. corymbosum* var. *hirsutum* (GAVA *et al.*, 1991), *C. intermedium* (GAVA *et al.*, 1996), *C. laevigatum* (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1969; PEIXOTO *et al.*, 2000), *C. parqui* (RIET-CORREA *et al.*, 1986), *C. retusa* (NOBRE *et al.*, 2005), *D. viscosa* (COLODEL *et al.*, 2003; CATTANI *et al.*, 2004), *M. aeruginosa* (JACKSON *et al.*, 1984), *M. laetum* (RAPOSO *et al.*, 1998), *S. brasiliensis* (CANELLA; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1968; CHAULET; PEIXOTO; TOKARNIA, 1990), *T. micrantha* (TRAVERSO *et al.*, 2002; TRAVERSO *et al.*, 2004), *V. molissima* (GAVA; PEIXOTO; TOKARNIA, 1987;

DÖBEREINER; TOKARNIA; PURISCO, 1976), *V. rubricaulis* (TOKARNIA; DÖBEREINER 1982), *X. cavanillesii* (MENDEZ; SANTOS; RIET-CORREA, 1998; DRIEMEIER *et al.*, 1999; LORETTI *et al.*, 1999; COLODEL; DRIEMEIER; PILATI, 2000). O fígado amarelado ou focos amarelados no fígado, são observados em casos de intoxicação por *C. corymbosum* var. *hirsutum* (GAVA *et al.*, 1991), *C. intermedium* (GAVA *et al.*, 1996), *C. laevigatum* (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1969; PEIXOTO *et al.*, 2000), *C. parqui* (RIET-CORREA *et al.*, 1986), *C. retusa* (NOBRE *et al.*, 2005), *M. laetum* (RAPOSO *et al.*, 1998), *S. brasiliensis* (CHAULET; PEIXOTO; TOKARNIA, 1990), *T. micrantha* (TRAVERSO *et al.*, 2002), *V. molissima* (GAVA; PEIXOTO; TOKARNIA, 1987; DÖBEREINER; TOKARNIA; PURISCO, 1976), *V. rubricaulis* (TOKARNIA; DÖBEREINER 1982). Hemorragias subcapsulares são observadas em intoxicações por *C. corymbosum* var. *hirsutum* (GAVA *et al.*, 1991), *C. laevigatum* (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1969), *D. viscosa* (COLODEL *et al.*, 2003), *M. aeruginosa* (JACKSON *et al.*, 1984), *M. laetum* (RAPOSO *et al.*, 1998), *S. brasiliensis* (CANELLA; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1968; CHAULET; PEIXOTO; TOKARNIA, 1990), *T. micrantha* (TRAVERSO *et al.*, 2002; TRAVERSO *et al.*, 2004), *V. molissima* (DÖBEREINER; TOKARNIA; PURISCO, 1976), *V. rubricaulis* (TOKARNIA; DÖBEREINER 1982), *X. cavanillesii* (DRIEMEIER *et al.*, 1999; COLODEL; DRIEMEIER; PILATI, 2000).

Histologicamente as lesões encontradas no fígado também são muito semelhantes a outras hepatotoxicoses, variando na sua maioria na intensidade da lesão. A lesão encontrada nos animais estudados era caracterizada por necrose coagulativa da região centrolobular, e algumas vezes caracterizando-se massiva. Em todos os casos de intoxicação hepática aguda, a necrose foi caracterizada como sendo centrolobular, no entanto a quantidade da substancia ingerida e o tempo de ingestão podem influir na intensidade da lesão observada. Assim todas as hepatotoxicoses citadas acima são caracterizadas como causando necrose centrolobular, podendo chegar à necrose massiva. Exceto nos casos de intoxicação por *M. laetum* (RAPOSO *et al.*, 1998) a lesão é caracterizada pela necrose da região periportal, podendo assim ser diferenciada das outras hepatotoxicoses agudas citadas. A localização das lesões encontradas nos casos de intoxicação pelas larvas de *P. flavipes* indicam um envolvimento da toxina com a enzima Citocromo p450, responsável pela detoxificação de substâncias no fígado, o que também é observado na maioria das toxinas que afetam o fígado e causam lesão na região centrolobular (CULLEN, 2007).

Na histopatologia dos casos de intoxicação por larvas de *P. flavipes* também foram verificadas lesões nos centros germinativos de diversos órgãos linfóides. Segundo McKenzie (1985a) essas lesões podem ser de grande valia na diferenciação de casos de intoxicação por outras hepatotoxicoses agudas. Foi observado, tanto nos ovinos como nos bovinos e coelhos necrose dos centros germinativos no baço, linfonodos e placas de Peyer. Estas lesões já foram observados em casos de intoxicações por *Polygala klotzschii*, *Baccharis coridifolia*, *B. megapotamica* var. *megapotamica*, *B. megapotamica* var. *weirii*, *Ricinus communis*, e *Schultesia guianensis* (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000), mas não têm sido descritas em casos de intoxicações que cursem com necrose hepática aguda.

As alterações encontradas no exame de microscopia eletrônica da amostra 3 onde pode ser observada a presença de hepatócitos necróticos demonstram que houve lesão hepática no ovino 6 após a segunda dose tóxica, mas a quantidade de hepatócitos afetados foi pequena, o que possibilitou a recuperação do ovino após apresentação de sinais discretos de intoxicação. Dilatação dos espaços de Disse e da luz de capilares sinusóides pode ser observada no fígado de animais intoxicados por *Xanthium cavanillesii* (LORETTI *et al.*, 1997) e *Microcystis aeruginosa* (JACKSON *et al.*, 1985), e são alterações que indicam lesão vascular. A proliferação de retículo endoplasmático liso (REL) dos hepatócitos, que também foi observada na microscopia eletrônica nas amostras 2 e 3, e tem sido descrita em animais que receberam doses subletais de drogas ou toxinas, aumentando a quantidade de enzimas responsáveis pela detoxificação destas substâncias (CHEVILLE, 1994). Os achados na microscopia eletrônica demonstram lesão hepática nas amostras analisadas e também lesão no endotélio vascular.

A utilização de uma dose baixa que não cause sinais clínicos nos animais (5g/kg) mostrou-se eficiente na produção de certa tolerância a doses mais altas (10 g/kg e 15 g/kg) que administradas em dose única em animal normal seriam suficientes para causar a morte. Entretanto isto só se mostrou verdadeiramente eficiente quando as doses foram administradas em um intervalo de 30 dias. Um intervalo menor (15 dias) também conferiu certa tolerância, ainda que menor. Estudos mais detalhados podem revelar uma utilização em rebanhos para evitar a intoxicação dos animais em áreas onde as larvas estão presentes.

Os coelhos também se mostraram sensíveis aos efeitos tóxicos das larvas de *P. flavipes*, com uma evolução do quadro clínico semelhante aos ovinos. Porém, a intensidade dos sinais clínicos e achados de necropsia foram mais discretos. Os

experimentos realizados com as frações sólidas e líquidas das larvas de *P. flavipes* indicam que o princípio hepatotóxico das larvas provavelmente se encontra na porção sólida das larvas, enquanto a porção líquida apresenta pouca ou nenhuma quantidade do princípio ativo tóxico. Entretanto, maiores estudos devem ser realizados.

Os achados epidemiológicos foram semelhantes aos encontrados por Soares *et al.*, (2008). O grande número de larvas nas pastagens durante os meses de julho e agosto possibilitou o acesso dos animais a grande quantidade de larvas de *P. flavipes*. No surto ocorrido em ovinos, os animais foram retirados do local e confinados, recebendo alimentação no cocho com suplementação mineral, e não foram relatadas outras mortes na propriedade. No surto em bovinos, após as primeiras mortes os animais foram retirados do local onde havia grande número de larvas de *P. flavipes* e foram colocados em um local onde não havia larvas neste segundo local ainda continuaram a morrer animais por um período de 5 dias, cessando então a morte de animais. Assim como o ocorrido nos casos de intoxicação por “sawfly” na Austrália e no Uruguai (DADSWELL; ABBOTT; MCKENZIE, 1985; DUTRA *et al.*, 1997b), a retirada dos animais dos locais onde as larvas estavam presentes cessou com as mortes tanto em ovinos como em bovinos, sendo esta a medida de controle mais eficaz até o momento.

O diagnóstico definitivo de intoxicação pelas larvas de *P. flavipes* só pode ser alcançado se reunirmos os dados epidemiológicos, aliado aos achados de necropsia e histopatologia. Desta forma pode-se descartar a presença de outras hepatotoxicoses e a observação de agrupamentos de larvas na pastagem dos animais intoxicados, a observação de restos das cabeças e segmentos das larvas em meio ao conteúdo ruminal e as lesões necróticas presentes nos diversos tecidos linfóides podem diferenciar a intoxicação das outras diversas causas de insuficiência hepática aguda.

6. CONCLUSÕES

As larvas de *Perreyia flavipes* se mostraram tóxicas para ovinos em doses únicas a partir de 7,5 g/kg.

As larvas permaneceram tóxicas mesmo após o congelamento e dessecação a 100°C por um período de 6 meses a 1 ano.

Os animais intoxicados tanto espontaneamente como experimentalmente apresentaram sinais clínicos, lesões macroscópicas, microscópicas e alterações bioquímicas características de insuficiência hepática aguda.

Ovinos que receberam as larvas em doses inferiores à dose tóxica e que posteriormente foram dosados com larvas em quantidade tóxica mostraram desenvolver tolerância à intoxicação.

O diagnóstico de intoxicação pelas larvas de *Perreyia flavipes* deve ser diferenciado de outras intoxicações hepáticas agudas pelos dados epidemiológicos e achados de necropsia e histopatologia.

A necrose de centros germinativos em folículos linfóides não tem sido descritas em outras hepatotoxicoses agudas e pode ser útil no diagnóstico da intoxicação.

Coelhos podem ser usados como animais experimentais para estudar a intoxicação por larvas de *P. flavipes*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, T. C. Hematoxylin and Eosin. In: PROPHET, E. B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J. B. *et al.* (Eds.) **Laboratory methods in histotechnology**. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, 1992. p. 53-58.
- BADYLAK, S. F. Coagulation disorders and liver disease. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 18, n. 1, p. 87-93, 1988.
- BRUMMERSTEDT, E. *et al.* Death of a puppy after eating sawfly larvae. Case report. **Dansk Veterinaertids**, v. 70, n. 15, p. 758-760, 1987.
- CALLOW, L. L. Sawfly poisoning in cattle. **Queensland Journal of Agricultural Science**, v. 81, p. 155-161, 1955.
- CAMARGO, O. R., As larvas “Mata-Porco” no Rio Grande do Sul. **Boletim da Diretoria de Produção Animal**. V. 13, p. 18-25, 1956.
- CANELLA, C. F. C.; TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. Intoxicação por *Sessea brasiliensis* Toledo em bovinos. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 3, p. 333-340, 1968.
- CATTANI, C. S. O. *et al.* Intoxicação experimental por *Dodonea viscosa* (Sapindaceae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n. 1, p. 31-34, 2004.
- CHAULET, J. H. F.; PEIXOTO, P. V.; TOKARNIA, C. H. Intoxicação experimental por *Sessea brasiliensis* (Solanaceae) em bovinos, ovinos e caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 10, n. 3, p. 71-84, 1990.
- CHEVILLE, N. F. Pathologic metabolism and growth. In:_____ **Ultrastructural Pathology: an introduction to interpretation**. Ames: Iowa State University Press, 1994. cap. 2, p. 125-274.
- CHONG, M. W. K. *et al.* Toxicity and uptake mechanism of cylindrospermopsin and lophirotomin in primary rat hepatocytes. **Toxicon**, v. 40, p. 205-211, 2002.
- COLLAZO, L.; RIET-CORREA, F. Experimental intoxication of sheep and cattle with *Wedelia glauca*. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 38, n. 3, p. 200-203, 1996.

- COLODEL, E. M.; DRIEMEIER, D.; PILATI, C. Intoxicação experimental pelos frutos de *Xanthium cavanillesii* (Asteraceae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 31-38, 2000.
- COLODEL, E. M. *et al.* Spontaneous poisoning by *Dodonea viscosa* (Sapindaceae) in cattle. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 45, n. 3, p. 147-148, 2003.
- CORNELIUS, C. E. Liver Function. In: KANEKO, J. J. (Ed) **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego: Academic Press, 1989. cap. 14, p. 364-397.
- COSTA LIMA, A. Bichos "Mata Porcos". **Chácaras e Quintais**, v. 63, p. 43, 1941.
- CULLEN, J. M. Liver, Biliary System, and Exocrine Pâncreas. In: MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J.F. (Ed.) **Pathologic Basis of Veterinary Disease**. 4. ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2007. cap. 8, p. 393-462.
- DADSWELL, L. P.; ABBOTT, W. D.; MCKENZIE, R. A. The occurrence, cost and control of sawfly larval (*Lophyrotoma interrupta*) poisoning of cattle in Queensland 1972-81. **Australian Veterinary Journal**, v. 62, n. 3, p. 94-97, 1985.
- DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C. H.; CANELLA, C. F. C. Intoxicação por *Cestrum laevigatum* Schlecht, a causa de mortandades em bovinos no estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.4, p.165-193, 1969.
- DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C. H.; PURISCO, E. *Vernonia molissima*, planta tóxica responsável por mortandades de bovinos no Sul de Mato Grosso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 11, p. 49-58, 1976.
- DRIEMEIER, D. *et al.* Intoxicação espontânea pelos frutos de *Xanthium cavanillesii* (Asteraceae) em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 19, n. 1, p. 12-18, 1999.
- DUTRA, F., **Intoxicação por larvas de *Perreyia flavipes* em bovinos e ovinos. Caracterização da doença e biologia do inseto**. 1997. Thesis, Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1997a.
- DUTRA, F. *et al.* Poisoning of cattle and sheep in Uruguay by sawfly (*Perreyia flavipes*) larvae. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 39, n. 5, p. 281-286, 1997b.

- GAVA, A.; PEIXOTO, P. V.; TOKARNIA, C. H. Intoxicação experimental por *Vernonia molissima* (Composita) em ovinos e bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 7, n. 2, p. 33-41, 1987.
- GAVA, A. *et al.* Intoxicação por *Cestrum corymbosum* var. *hirsutum* (Solanaceae) em bovinos no Estado de Santa Catarina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.11, n.3/4, p.71-74, 1991.
- GAVA, A. *et al.* Intoxicação por *Cestrum intermedium* (Solanaceae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.16, n.4, p.117-120, 1996.
- JACKSON, A. R. B. *et al.* Clinical and Pathological Changes in Sheep experimentally poisoned by the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. **Veterinary Pathology**, v. 21, p. 102-113, 1984.
- KANNAN, R. *et al.* Identification of the octapeptídeo lophyrotomin in the European birch sawfly (*Arge pullata*). **Toxicon**, v. 26, n. 2, p. 224-226, 1988.
- LORETTI, A. P. *et al.* Intoxicação experimental pelos frutos de *Xanthium cavanillesii* (Asteraceae) em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 19, n. 2, p. 71-78, 1999.
- MCKENZIE, R. A.; ROGERS, R. J.; OELRICHS, P. B., Sawfly larvae poisoning of cattle in Queensland. In: SEAWRIGHT, A. A.; HEGARTY, M. P.; JAMES, L. F. *et al.* (Eds.) **Proceedings of the Australia-USA Poisonous Plants Symposium**. Brisbane: Queensland Poisonous Plant Committee, pp. 1985a. p. 524-532.
- MENDEZ, M. D. C.; SANTOS, R. C.; RIET-CORREA, F. Intoxication by *Xanthium cavanillesii* in cattle and sheep in Southern Brazil. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 40, n. 3, p. 144-147, 1998.
- NOBRE, V. M. T. *et al.* Acute intoxication by *Crotalaria retusa* in sheep. **Toxicon**, v. 45, p. 347-352, 2005.
- OELRICHS, P. B. *et al.* Lophyrotomin, a new toxic octapeptide from the larvae of sawfly, *Lophyrotoma interrupta*. **Lloydia**, v. 40, n. 2, p. 209-214, 1977.
- OELRICHS, P. B. Sawfly poisoning of cattle. **Queensland Agricultural Journal**, v. 108, p. 110-112, 1982.

- OELRICHS, P. B. *et al.* Unique toxic peptides isolated from sawfly larvae in three continents. **Toxicon**, v. 37, n. 3, p. 537-544, 1999.
- OLAECHEA, F. V. *et al.* Interference with sawfly (*Arge pullata*) poisoning in *Fasciola hepatica*-infected lambs. **Journal of Comparative Pathology**, v. 104, p. 419-431, 1991.
- PEDROSO, P. M. O. *et al.* Intoxicações naturais por plantas em ruminantes diagnosticadas no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS no período de 1996-2005. 2007. Artigo aceito para publicação em **Acta Scientiae Veterinariae**.
- PEIXOTO, P. V. *et al.* *Cestrum laevigatum* poisoning in goats in southeastern Brazil. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 42, n. 1, p. 13-14, 2000
- RADOSTITS, O. M. *et al.* **Clínica veterinária: um tratado de doença dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
- RAPOSO, J. B. *et al.* Experimental intoxication by *Myoporum laetum* in sheep. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 40, n. 3, p. 132-135, 1998.
- RIET-CORREA, F. *et al.* Intoxicação por *Cestrum parqui* (Solanaceae) em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 6, n. 4, p. 111-115, 1986.
- RIET-CORREA, F. *et al.* Sawfly (*Perreyia flavipes*) larval poisoning of cattle, sheep and swine. In: GARLAND T., BARR A.C. (Eds.). **Toxic Plants and Other Natural Toxicants**. CAB International Press, 1998. pp. 291-296.
- RIET-CORREA F.; MEDEIROS R. M. T. Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, p. 38-42, 2001.
- SCHMIDT, S.; SMITH, D. An annotated systematic world catalogue of the pergidae (hymenoptera). **American Entomological Institute**, v. 34, n. 3, 207 pp., 2006.
- SMITH, D. R. A synopsis of the sawflies (Hymenoptera, symphyta) of the America South of the United States: Pergidae. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 34, p. 7-200, 1990.

- SOARES, M. P. *et al.* Experimental intoxication by larvae of *Perreyia flavipes* Konow, 1899 (Hymenoptera: Pergidae) in pigs and some aspects on its biology. **Toxicon**, v. 39, n. 5, p. 669-678, 2001.
- SOARES, M. P.; QUEVEDO, P. S.; SCHILD, A. L. Intoxicação por larvas de *Perreyia flavipes* Konow, 1899 (Hymenoptera: Pergidae) em bovinos na região sul do Rio Grande do Sul. 2008. Aceito para publicação em **Pesquisa Veterinária Brasileira**. (no prelo)
- STALKER, M. J.; HAYES, M. A. Liver and Biliary Sistem. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMNER, N. C. (Ed.) **Pathology od Domestic Animals**. 5. ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007. vol. 2, cap. 2, p. 297-388.
- THAMSBORG, S. M.; JØRGENSEN, R. J.; BRUMMERSTEDT, E. Sawfly poisoning in sheep and goats. **Veterinary Record**, v. 121, n. 11, p. 253-255, 1987.
- THAMSBORG, S. M. *et al.* Putative effect of Silymarin on sawfly (*Arge pullata*) induced hepatotoxicosis in sheep. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 38, n. 2, p. 89-91, 1996.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. Intoxicação de bovinos por *Vernonia rubricauillis* (Compositae) em Mato Grosso. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 2, n. 4, p. 143-147, 1982.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000, 310p.
- TRAVERSO, S. D. *et al.* Intoxicação experimental por *Trema micrantha* (Ulmaceae) em caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 22, n. 4, p. 141-147, 2002.
- TRAVERSO, S. D. *et al.* Intoxicação experimental por *Trema micrantha* (Ulmaceae) em bovinos. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 24, n. 4, p. 211-216, 2004.
- WILLIAMS, D. H.; SANTIKARN, S.; DE ANGELIS, F. The structure of a toxic octapeptide from the sawfly larvae. **Journal of Chemical Society Perkin Transaction I**, n. 8, p. 1869-1878, 1983.

ANEXO A**SPONTANEOUS POISONING BY LARVAE OF *Perreyia flavipes*
(PERGIDAE) IN SHEEP**

**Djeison Lutier Raymundo, Pedro Soares Bezerra Junior, Paulo Mota Bandarra,
Pedro Miguel Ocampos Pedroso, Eduardo Conceição de Oliveira, Caroline Argenta
Pescador and David Driemeier**

**ARTIGO PUBLICADO EM
PESQUISA VETERINARIA BRASILEIRA**

Spontaneous poisoning by larvae of *Perreyia flavipes* (Pergidae) in sheep

Djeison Lutier Raymundo¹, Pedro Soares Bezerra Junior¹, Paulo Mota Bandarra¹, Pedro Miguel Ocampos Pedroso¹, Eduardo Conceição de Oliveira¹, Caroline Argenta Pescador¹ and David Driemeier^{1*}

ABSTRACT.- Raymundo D.L., Bezerra Junior P.S., Bandarra P.M., Pedroso P.M.O., Oliveira E.C., Pescador C.A. & Driemeier D. 2007. Spontaneous poisoning by larvae of *Perreyia flavipes* (Pergidae) in sheep. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 28(1):19-22. Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9090, Porto Alegre, RS 91540-000, Brazil. E-mail: davetpat@ufrgs.br

In total, 25 animals from a flock with 175 Texel sheep died after consumption of a sawfly larvae subsequently identified as *Perreyia flavipes*. The disease occurred in June and July / 2006 on a farm located at the county of Encruzilhada do Sul, Rio Grande do Sul state, Brazil. Although there were 11 cattle in the same paddock, none of them was affected. High numbers of compact masses containing up to 150 larvae were scattered on the paddock in which animals were grazing. Most affected sheep showed severe apathy during approximately 24-36 h before death, but weakness, muscular tremors, and depression were also observed. Necropsy was performed in six sheep and the main macroscopic lesions were hemorrhages in the subcutaneous tissues, endocardium, gallbladder wall, and abomasal mucosae. All animals presented hydrothorax, hydropericardium, ascites, and mild jaundice. Edema in the abomasal folds, mesentery, perirenal tissues, and gallbladder wall were also seen. The livers had a yellowish coloration with disseminated pinpoint hemorrhages in parenchyma and enhanced lobular pattern. *Perreyia flavipes* larval body fragments and heads were found in the forestomach contents of the six sheep. Feces were scant, dry and formed balls coated by mucus and streaks of blood. Similar contents were also present at the end of the cecum. Prominent microscopic lesions included severe and diffuse peri-acinar or massive necrosis of hepatocytes associated with multifocal random hemorrhages. Diffuse necrosis of lymphoid follicles in lymphnodes and Peyer's patches, lymphoid depletion and necrosis in germinative centers of the spleen, and diffuse vacuolization in the renal tubular epithelia were also seen.

INDEX TERMS: liver necrosis, *Perreyia flavipes*, sawfly larval poisoning, sheep.

¹ Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves 9090, Porto Alegre, RS 91540-000, Brazil. *Corresponding author: davetpat@ufrgs.br

RESUMO.- [Intoxicação espontânea por larvas de *Perreyia flavipes* (Pergidae) em ovinos.] Vinte e cinco ovinos Texel de um rebanho de 175 morreram após ingerirem larvas posteriormente identificadas como *Perreyia flavipes*. A doença ocorreu em Junho e Julho de 2006, em uma propriedade localizada em Encruzilhada do Sul, Rio Grande do Sul. Embora houvesse também 11 bovinos no mesmo potreiro, nenhum foi afetado. Grandes quantidades de massas compactas, contendo cada uma mais de 150 larvas, estavam espalhadas na pastagem onde os animais pastoreavam. Os ovinos afetados apresentavam apatia severa por 24 a 36 horas antes da morte. Fraqueza, tremores musculares e depressão também foram vistos. Em necropsias realizadas em seis animais, as principais alterações macroscópicas foram hemorragias no tecido subcutâneo, endocárdio, parede da vesícula biliar e mucosa abomasal. Hidrotórax, hidropericárdio, ascite e icterícia estavam presentes em todos os animais. Edema nas pregas do abomaso, mesentério, tecidos peri-renais e parede da vesícula biliar também foram observados. Os fígados estavam amarelados, com petéquias disseminadas no parênquima e padrão lobular aumentado. Fragmentos de corpos e cabeças de larvas de *Perreyia flavipes* foram encontrados nos conteúdos ruminais dos seis animais. O conteúdo da porção final do cólon, ceco e reto estava seco, com muco aderido e estrias de sangue. Necrose de hepatócitos periacinar ou massiva associada com hemorragias multifocais aleatórias foi o principal achado histológico, mas também havia necrose difusa em folículos linfóides nas placas de Peyer e linfonodos, depleção linfóide e necrose em centros germinativos no baço e vacuolização no epitélio tubular renal.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: intoxicação, larvas, necrose hepática, ovinos, *Perreyia flavipes*.

ANEXO B**INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA PELAS LARVAS DE *Perreyia flavipes*
(PERGIDAE) EM BOVINOS NO ESTADO DE SANTA CATARINA**

**Djeison Lutier Raymundo, Pedro Soares Bezerra Junior, Paulo Mota Bandarra,
Adriana Silva dos Santos, Luciana Sonne, Saulo Petinatti Pavarini, André
Mendes Ribeiro Corrêa, Marcelo Maronna Dias e David Driemeier**

**ARTIGO SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO EM
CIÊNCIA RURAL**

Intoxicação espontânea pelas larvas de *Perreyia flavipes* (Pergidae) em bovinos no estado de Santa Catarina

Spontaneous poisoning by larvae of *Perreyia flavipes* (Pergidae) in cattle in Santa Catarina

**Djeison Lutier Raymundo² Pedro Soares Bezerra Junior¹ Paulo Mota Bandarra¹
Adriana Silva dos Santos¹ Luciana Sonne¹ Saulo Petinatti Pavarini¹ André Mendes
Ribeiro Corrêa¹ Marcelo Maronna Dias³ David Driemeier¹**

RESUMO

Descreve-se um surto de intoxicação por *Perreyia flavipes* ocorrido em agosto de 2006 em um rebanho bovino de 280 animais no município de Sombrio em Santa Catarina. Ocorreram 17 mortes apenas em um lote de 77 bovinos de raça mista com idades entre 1 e 2 anos mantidos em um piquete (P1) de aproximadamente 90 hectares por cerca de 30 dias. Após as primeiras duas mortes os animais foram movidos para um segundo piquete (P2) onde ainda ocorreram 15 mortes nos cinco dias após a transferência. Seis bovinos foram necropsiados e amostras de tecidos avaliadas para exame histológico. Os achados de necropsia incluíam hemorragias subcutâneas, na mucosa do abomaso e superfície subepicárdica. Ascite e edema do abomaso, duodeno, pâncreas e vesícula biliar foram observados. O fígado apresentava-se amarelado com petéquias subcapsulares e acentuação do padrão lobular. No rúmen de três bovinos em que o conteúdo foi examinado para verificar sua composição, foram encontradas larvas íntegras e restos de larvas de *P. flavipes* em meio à capim parcialmente digerido. Histologicamente o fígado apresentava tumefação hepatocelular e necrose centrolobular e mediozonal, difusa e acentuada, com hemorragia e congestão centrolobular. Havia depleção e necrose linfóide no baço, placas de Peyer e linfonodos mesentéricos. O diagnóstico de intoxicação pelas larvas da *P. flavipes* deste surto foi baseado nos dados epidemiológicos, achados de necropsia e alterações histopatológicas. As lesões hepáticas

² Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV – UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 9090, Agronomia - CEP 91540-000 - Porto Alegre, RS, Brasil.. E-mail: davetpat@ufrgs.br

¹ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Professor substituto da disciplina de Extensão Rural da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

e em tecidos linfóides, além da grande quantidade de larvas de *P. flavipes* no primeiro piquete (P1) e no rúmen de animais necropsiados foram dados importantes para o diagnóstico.

Palavras – chave: *Perreyia flavipes*, necrose de fígado, bovinos.

ABSTRACT

This article describes an outbreak of *Perreyia flavipes* poisoning in August of 2006 in a cattle herd of 280 animals in municipality Sombrio in county, Santa Catarina, southern Brazil. Seventeen bovines between 1 and 2 years old from one sub-herd of 77 mixed breed cattle died. The herd was kept in a paddock of 90 hectares (P1) for 30 days. After de first two deaths occurred, the sub-herd was transferred to a second paddock (P2) and 15 more animals died in the next 5 days. Samples from 6 of these animals were analyzed. During the necropsy hemorrhage were seen in the subcutaneous tissue, abomasal mucosa and subepicardial area. The animals presented ascites and edema of the abomasal folds, duodenum, pancreas and gallbladder. The liver was yellowish, had subcapsular petechial hemorrhages and accentuated lobular pattern. There were remnants of *P. flaviceps* larvae in the rumen content of three of the animals. In the histological examination the liver showed hepatocellular tumefaction, diffuse coagulative necrosis of centrilobular and midzone hepatocytes, hemorrhage and centrilobular congestion. Lymphoid depletion and diffuse necrosis of germinative centers of lymphoid follicles in mesenteric lymph nodes, Peyer's patches and spleen were also observed. The diagnosis of intoxication by *P. flaviceps* larvae in this outbreak was based in the epidemiological data, necropsy and histological findings. The confirmation of *P. flaviceps* larvae as cause of the outbreak was done by the observation of intact larvae and remnants in the ruminal content of the necropsied bovines and by the presence of great number of larvae clusters in the paddock 1 (P1).

Key words: *Perreyia flavipes*, liver necrosis, cattle, sawfly.