

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

**TECNOLOGIAS PARA DETERMINAÇÃO DO PRINCÍPIO
TÓXICO E CONTROLE NA INTOXICAÇÃO POR *Amorimia*
pubiflora EM ANIMAIS DE PRODUÇÃO**

Ariany Carvalho dos Santos

CAMPO GRANDE, MS

2014

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

**TECNOLOGIAS PARA DETERMINAÇÃO DO PRINCÍPIO
TÓXICO E CONTROLE NA INTOXICAÇÃO POR *Amorimia
pubiflora* EM ANIMAIS DE PRODUÇÃO**

**Technologies for determination of toxic principle and control in the
poisoning by *Amorimia pubiflora* in animal of production**

Ariany Carvalho dos Santos

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Antônio Amaral de Lemos

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciência Animal. Área concentração: Saúde Animal.

CAMPO GRANDE, MS

2014

Certificado de aprovação

ARIANY CARVALHO DOS SANTOS

Tecnologias para determinação do princípio tóxico e controle na intoxicação por *Amorimia pubiflora* em animais de produção.

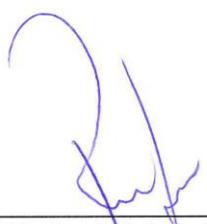
Technologies for determination of toxic principle and control in the poisoning by *Amorimia pubiflora* in animal of production

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de doutora em Ciência Animal.

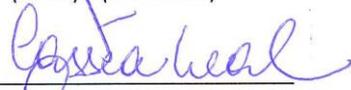
Área de concentração: Saúde Animal.

Aprovado(a) em: 06/06/2014

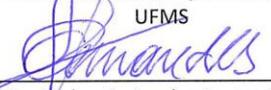
BANCA EXAMINADORA:



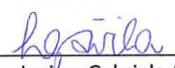
Prof. Dr. Ricardo Antonio Amaral de Lemos
(UFMS) – (Orientador)



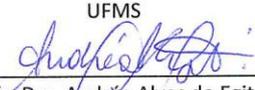
Profa. Dra. Cassia Rejane Brito Leal
UFMS



Prof. Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes
UFMS



Profa. Dra. Larissa Gabriela Avila
UFMS



Profa. Dra. Andréa Alves do Egito
Embrapa /CNPGC

Aos meus pais, Pedro (*In memoriam*) e Virtude e,
Ao meu irmão Pedro Henrique que sempre apoiaram minhas lutas e conquistas.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar-me nesta caminhada, por me dar forças para enfrentar as dificuldades do dia a dia e por estar presente iluminando os caminhos de minha vida.

Ao professor Ricardo Antônio Amaral de Lemos pelos ensinamentos, orientação e paciência em todas as etapas desse trabalho.

Aos professores Carlos Eurico e Cássia pelos valiosos ensinamentos.

Ao meu namorado Roosevelt, em especial, pela paciência, compreensão e apoio em todos os momentos. E aos seus pais, Izaías e Ana Lúcia, pelo incentivo e carinho.

Aos meus amigos Antônio, Juan, Éllen, Tatiane, Rubiane, Rafael, Nickolly, Jonilson, Dyego (Sisson), Stephanie, Mariana, Rayane, Paula, Renata, Kelly, Paulo e Nilton pela amizade e companheirismo.

Aos estagiários do LAP/FAMEZ Renato e Rafael pela imensa ajuda.

Aos funcionários da FAMEZ Letícia, Gerson, Saturnina, Elias, Miguel, Paulinho, Arnaldo e Ramiro que também fizeram parte dessa história.

À Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT Edital nº 011/2013 – Doutorado em MS) pela concessão de bolsa de doutorado.

E finalmente, a minha grande FAMÍLIA!!! Que sempre me deu forças e incentivo!!!

“Tenho às vezes vontade de ser
novamente um menino,
e na hora do meu desespero
gritar por você,
te pedir que me abrace
e me leve de volta pra casa
e me conte uma história bonita
e me faça dormir” (Roberto Carlos)

Resumo

SANTOS, A. C. Tecnologias para determinação do princípio tóxico e controle na intoxicação por *Amorimia pubiflora* em animais de produção. 2014. 77f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2014.

No Brasil, treze espécies de plantas que causam morte súbita associada ao exercício são responsáveis por causas de mortalidade e perdas econômicas diretas e indiretas no rebanho bovino. Dentre estas, a *Amorimia pubiflora* é uma das principais plantas tóxicas de interesse pecuário de Mato Grosso do Sul. As plantas que compõem esse grupo têm como princípio tóxico o monofluoroacetato de sódio (MFA). A toxicidade do MFA ocorre, exclusivamente, pela ação do fluorocitrato, um metabólito tóxico formado no organismo por meio da denominada síntese letal. Estudos para implantar medidas de controle e profilaxia efetivas para as intoxicações por plantas que contenham MFA encontram-se em desenvolvimento e já foi demonstrado que caprinos aumentam consideravelmente a resistência à intoxicação mediante a ingestão de quantidades não tóxicas de *Amorimia septentrionalis* e *Palicourea aeneofusca*, ou por transfaunação de conteúdo ruminal de animais resistentes para animais susceptíveis. Os resultados desses trabalhos sugerem outras possibilidades a serem investigadas para o controle das intoxicações por plantas que contenham MFA. O objetivo desta tese foi determinar a frequência e a importância da intoxicação por *Amorimia pubiflora* em bovinos de Mato Grosso do Sul, através de estudo retrospectivo dos diagnósticos realizados pelo Laboratório de Anatomia Patológica (LAP), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) e avaliar se é possível induzir resistência à intoxicação por MFA em ovinos mediante a administração de doses crescentes não letais de MFA por períodos alternados, desafiando-os com dose tóxica única do princípio tóxico.

Palavras-chave: Intoxicação por plantas; monofluoroacetato de sódio; *Amorimia pubiflora*; bovinos; ovinos.

Abstract

SANTOS, A. C. Technologies for determination of toxic principle and control in the poisoning by *Amorimia pubiflora* in animal of production. 2014. 77f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2014.

In Brazil, thirteen species of plants that cause sudden death associated with exercise are responsible for mortality and causes of direct and indirect economic losses in cattle. Among these, the *Amorimia pubiflora* is a main toxic plant of livestock interests of Mato Grosso do Sul. The plants that make up this group have as the toxic principle the sodium monofluoroacetate (MFA). The toxicity of MFA occurs exclusively by the action of fluorocitrato, a toxic metabolite formed in the body by means of so-called lethal synthesis. Studies to implement control measures and effective prophylaxis for poisoning by plants containing MFA are developing and has been shown that goats considerably increase resistance to poisoning by ingestion of amounts nontoxic of *Amorimia septentrionalis* and *Palicourea aeneofusca*, or transfaunation of rumen contents from resistant to susceptible animals. The results of these studies suggest other possibilities to be investigated for the control of plant poisoning that containing MFA. The objective of this thesis was to determine the frequency and importance of poisoning by *Amorimia pubiflora* in cattle of Mato Grosso do Sul through a retrospective study of the diagnosis made by the Laboratório de Anatomia Patológica (LAP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), and assess whether it is possible to induce resistance to poisoning by MFA in sheep by administering increasing doses nontoxic of MFA, for alternating periods, challenging them with a single toxic dose of the toxic principle.

Keywords: Poisonous plants; sodium monofluoroacetate; *Amorimia pubiflora*; cattle; sheep.

Lista de ilustrações

- Figura 1 – Bloqueio do ciclo de Krebs pelo monofluoroacetato de sódio. Síntese letal 22
- Figura 2 – *Amorimia pubiflora* em uma propriedade onde ocorreram surtos de intoxicação em bovinos. No detalhe, inflorescência 29
- Figura 3 – Lesões macroscópicas observadas nos ovinos intoxicados por monofluoroacetato de sódio (MFA): A – Aurículas (AU), veias cavas caudal (CL) e cranial (C), ázigos (A) e costo cervical (CC) acentuadamente ingurgitados; B – Moderado hidropericárdio (seta); C – Fígado acastanhado intercalado com áreas avermelhadas; D – Pulmões não colapsados (“armados”), lisos, brilhantes, pesados, com áreas irregulares avermelhadas; E – Os rins apresentavam cortical pálida ao corte; F – No coração havia áreas pálidas no miocárdio (seta) 32
- Figura 4 – Rim. Ovino. Discreta a moderada tumefação e vacuolização (degeneração hidrópico-vacuolar) dos túbulos contorcidos distais associadas à picnose nuclear. HE, obj. 10X 33
- Figura 5 – Fígado. Ovino. Acentuada tumefação e vacuolização difusa dos hepatócitos e discreta necrose individual aleatória de hepatócitos. HE, obj. 10X ... 33

Lista de tabela

Tabela 1 - Doenças tóxicas diagnosticadas em bovinos pelo Laboratório de Anatomia Patológica (LAP), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), durante o período de 2000-2012	28
--	----

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Intoxicação por plantas que causam morte súbita	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 Intoxicação espontânea por <i>Amorimia pubiflora</i> em bovinos em MS	24
3.2 Indução de resistência pela administração de doses não letais crescentes de MFA em ovinos	25
4 RESULTADOS	27
4.1 Intoxicação espontânea por <i>Amorimia pubiflora</i> em bovinos em MS	27
4.2 Indução de resistência pela administração de doses não letais crescentes de MFA em ovinos	29
5 DISCUSSÃO	34
REFERÊNCIAS.....	38
7 ARTIGO 1 – Administração repetida de doses não tóxicas de monofluoroacetato de sódio não protege contra a intoxicação por este composto em ovinos	46
8 ARTIGO 2 – Doenças tóxicas de bovinos em Mato Grosso do Sul	56
ANEXO – Instruções aos autores: Pesquisa Veterinária Brasileira	77

INTRODUÇÃO

No Brasil, um dos grupos mais importantes de plantas tóxicas de interesse pecuário é o das que causam morte súbita, que se caracteriza por evolução superaguda, associada ao exercício. Integram esse grupo plantas das famílias Rubiaceae, Bignoniaceae e Malpighiaceae. Algumas plantas da família Malpighiaceae, designadas anteriormente como *Mascagnia*, foram reclassificadas dentro do gênero *Amorimia*. No Brasil, há atualmente 13 plantas pertencentes a este grupo: *Palicourea marcgravii*, *Palicourea aeneofusca*, *Palicourea juruana*, *Palicourea grandiflora*, *Tanaecium bilabiatum* (anteriormente conhecida como *Arrabidaea bilabiata*), *Fridericia (Arrabidaea) japurensis*, *Pseudocalymma elegans*, *Amorimia (Mascagnia) rigida*, *Amorimia (Mascagnia) pubiflora*, *Amorimia (Mascagnia) exotropa*, *Amorimia* sp. (complexo *M. rigida*; *M. aff. rigida*) (TOKARNIA et al., 2012; LEE et al., 2012) e *Amorimia septentrionalis* (LEE et al., 2012). A maioria dessas plantas contém monofluoroacetato de sódio (MFA) como princípio tóxico (OLIVEIRA, 1963; KREBS et al., 1994; CUNHA et al., 2012; LEE et al., 2012; COOK et al., 2014).

A *P. marcgravii* é a planta tóxica mais importante do Brasil e *A. pubiflora* é uma das mais importantes em Mato Grosso do Sul (MS) (TOKARNIA et al., 2012). Em estudo realizado em MS, durante o período de 1994 a 2008, as taxas de mortalidade em bovinos causadas por plantas consistiam em 2,84% dos casos e as principais plantas tóxicas de interesse pecuário responsáveis por estas mortes foram *Brachiaria* spp., *Vernonia rubricaulis* e *Amorimia pubiflora*. No entanto, se avaliarmos a área plantada por *Brachiaria* spp. e os coeficientes de morbidade e letalidade dos surtos, pode-se concluir que sua importância como planta tóxica é pequena quando comparada ao seu potencial como forrageira. Desta forma, a *Amorimia pubiflora* pode ser considerada como a segunda planta tóxica de interesse pecuário mais importante em MS (LEMOS et al., 2009).

Atualmente, as únicas alternativas para o controle da intoxicação por plantas são a utilização de herbicidas, a remoção manual das plantas ou o uso de cercas para evitar que os animais tenham acesso às plantas (RIET-CORREA et al., 1993; RIET-CORREA; MÉNDEZ, 2007; TOKARNIA et al., 2012). No Brasil, estudos para implantar medidas de controle e profilaxia efetivas para as intoxicações por plantas que contenham MFA encontram-se em desenvolvimento e já foi demonstrado que,

em caprinos, a resistência à intoxicação aumenta consideravelmente mediante a ingestão de quantidades não tóxicas de *A. septentrionalis* (DUARTE et al., 2013) e *Palicourea aeneofusca* (OLIVEIRA et al. 2013) ou por transfaunação de conteúdo ruminal de animais resistentes para animais suscetíveis (DUARTE et al., 2013). Bactérias que hidrolisam MFA foram isoladas do solo, de folhas de *A. septentrionalis* e *Palicourea aeneofusca* e do rúmen de caprinos, sugerindo que a intoxicação possa ser prevenida pela inoculação intraruminal dessas bactérias (CAMBOIM et al., 2012a,b).

Os resultados destes trabalhos sugerem outras possibilidades a serem investigadas para o controle das intoxicações por plantas que contenham MFA, como a administração de MFA em doses não tóxicas que permita a proliferação de bactérias que tenham atividade de dehalogenases (DUARTE et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2013).

Diante disso, os objetivos deste estudo foram determinar a frequência da intoxicação por *Amorimia pubiflora* em bovinos de Mato Grosso do Sul, através de estudo retrospectivo dos diagnósticos realizados pelo Laboratório de Anatomia Patológica (LAP), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), entre janeiro de 2000 e dezembro de 2012, e avaliar se é possível induzir resistência à intoxicação por MFA em ovinos mediante a administração de doses crescentes não letais de MFA por períodos alternados, desafiando-os com dose tóxica única do mesmo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

As intoxicações por plantas são importantes causas de mortes e perdas econômicas diretas e indiretas no rebanho brasileiro (RISSI et al., 2007). As perdas diretas incluem morte de animais, redução do desempenho reprodutivo (abortos, infertilidade, malformações) e da produção (leite, carne ou lã) dos animais sobreviventes e outras alterações ou doenças intercorrentes devidas ao aumento da suscetibilidade pela depressão imunológica. As perdas indiretas são associadas com custos de controle das plantas tóxicas nas pastagens, medidas de manejo para evitar as intoxicações (construção de cercas e pastoreio alternativo), compra de gado para substituir os animais mortos e custos do diagnóstico das intoxicações e do tratamento dos animais afetados. Além disso, deve-se considerar a redução do valor da forragem devido ao atraso na sua utilização e a redução do valor da terra pela infestação com plantas tóxicas (RIET-CORREA et al., 1993; JAMES, 1994; RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001; RIET-CORREA; MÉNDEZ, 2007).

As perdas econômicas causadas pelas intoxicações por plantas são difíceis de estimar por escassez de dados confiáveis sobre todos esses fatores, no entanto, as perdas causadas por mortes são mais facilmente determinadas através da análise dos dados elaborados por laboratórios de diagnóstico, sobre a frequência das causas de mortes dos animais nas suas respectivas áreas de abrangência (RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001; KARAM et al., 2004; PEDROSO et al., 2007; RISSI et al., 2007; TOKARNIA et al., 2012). No Brasil, pelo menos 5% da população bovina morre anualmente, sendo que dados de laboratórios de diagnóstico de diversos Estados indicam que 7 a 14% das mortes de bovinos são causadas por plantas tóxicas (RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001; RIET-CORREA; MÉNDEZ, 2007).

No Brasil, o número de plantas conhecidas como tóxicas para ruminantes e equinos aumenta permanentemente. Em 2000, eram conhecidas 90 espécies tóxicas, pertencentes a 52 gêneros (RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001). Em 2012, esse número aumentou para 130 espécies de plantas tóxicas de interesse pecuário que tiveram a sua toxicidade confirmada através de experimentos nas espécies animais afetadas sob condições naturais (TOKARNIA et al., 2012). Apesar do grande número de plantas tóxicas conhecidas em algumas regiões do Brasil e do avanço obtido no período de 2005 a 2007 em relação às plantas tóxicas das regiões

Norte, Nordeste e Centro-Oeste, o conhecimento sobre as intoxicações por plantas nessas regiões é ainda limitado e, inclusive, há doenças de etiologia desconhecida, causadas provavelmente por plantas tóxicas (RIET-CORREA; MÉNDEZ, 2007). Na região Centro-Oeste, os efeitos tóxicos de plantas, até então desconhecidas como causadoras de intoxicações em herbívoros, foram demonstrados em novos estudos (CARVALHO et al., 2006, 2013; FERREIRA et al., 2009; SANTOS et al., 2011; SANT'ANA et al., 2012).

Apesar da vasta informação e do trabalho realizado sobre intoxicações por plantas no Brasil em animais de interesse pecuário (TOKARNIA et al., 1979; RIET-CORREA et al., 1993; RIET-CORREA et al., 2009; TOKARNIA et al., 2012), as medidas de controle associadas, em muitas situações, não tem apresentado resultados satisfatórios e as plantas tóxicas continuam causando perdas econômicas importantes no país (RISSI et al., 2007). De maneira geral, o estudo das plantas tóxicas de interesse pecuário segue a tecnificação dos sistemas de produção das pastagens. Isto ocorreu nos Estados Unidos e na Austrália (WHITTEN, 1978) e o manejo das pastagens é citado como o meio mais econômico de prevenir as perdas causadas pelas intoxicações por plantas (SCHUSTER, 1978).

Até 2005, a pesquisa em plantas tóxicas no Brasil se limitava, prioritariamente, à identificação das espécies tóxicas e à determinação de sinais clínicos, patologia e alguns aspectos da epidemiologia das intoxicações. A profilaxia e o controle das intoxicações por plantas no Brasil têm se realizado com base no conhecimento dos fatores associados às plantas, aos animais, ao ambiente ou ao manejo que determinam a ocorrência, frequência e distribuição geográfica das intoxicações. Algumas medidas preventivas incluem: (1) o manejo dos animais e das pastagens, tais como evitar o pastejo excessivo, utilizar animais de espécies ou idades resistentes a determinadas plantas e evitar que animais recentemente transportados com fome ou sede sejam colocados em pastagens infestadas por plantas tóxicas; (2) a construção de cercas para isolar áreas infestadas por plantas tóxicas; (3) a eliminação das espécies tóxicas pela retirada manual, utilização de herbicidas, roçadas, capinas, queimadas ou pelo pastejo com animais não suscetíveis; (4) a utilização de sementes controladas para evitar a difusão de espécies tóxicas; (5) e a confecção de feno e silagem cuja contaminação por espécies tóxicas seja evitada (RIET-CORREA et al., 1993; RIET-CORREA; MÉNDEZ, 2007; TOKARNIA et al., 2012).

Considerando que essas medidas têm apresentado resultados limitados e devido à importância econômica das intoxicações por plantas no Brasil, é necessário desenvolver também em nosso país técnicas mais eficientes de controle semelhantes às empregadas atualmente em outros países, como aversão alimentar condicionada, utilização de programas de seleção para a obtenção de variedades de forrageiras ou grãos atóxicos ou menos tóxicos, vacinação, controle biológico, detoxificação microbiana no rúmen, utilização de substâncias que neutralizam os princípios tóxicos e resistência dos animais (RIET-CORREA; MÉNDEZ, 2007).

Nos sistemas produtivos de Mato Grosso do Sul, a alternativa mais promissora é a indução da resistência ao consumo de plantas tóxicas através da adaptação por meio da administração de doses crescentes das plantas, de seus princípios tóxicos ou de substâncias que induzam a resistência a esses princípios. Essa metodologia foi aplicada recentemente no Brasil, na qual se induziu a resistência em ovinos ao consumo de *Crotalaria retusa*. Demonstrou-se que os ovinos morrem após a ingestão de 3-5 g por kg de peso vivo (g/kg PV) de sementes de *C. retusa*, mas ovinos que ingerem diariamente 2 g/kg PV por mais de 10 dias se tornam resistentes a doses de 10 g/kg PV ou mais. Essa informação está sendo utilizada para o controle de *C. retusa* através de ovinos resistentes (RIET-CORREA et al., 2011).

Outros trabalhos descreveram a existência de ovinos resistentes à intoxicação por *Brachiaria* (CASTRO et al., 2007; SATURNINO et al., 2010; FACCIN et al., 2014). Embora o mecanismo exato pelo qual ocorra a resistência seja desconhecido, é possível que esta se desenvolva devido à adaptação da microbiota ruminal. Este é um mecanismo bem conhecido de resistência às intoxicações por plantas. Os ruminantes que ingerem quantidades crescentes de plantas que contêm oxalatos se tornam resistentes a estas toxinas devido ao desenvolvimento de mecanismos de detoxificação microbiana no rúmen. A detoxificação bacteriana tem sido utilizada com sucesso no controle da intoxicação por *Leucaena leucocephala*. A planta contém o aminoácido mimosina que, no rúmen, é transformado no metabólito tóxico 3-hidroxi-4(1H)-piridona. Resultados semelhantes foram obtidos em outro trabalho que avaliou a adaptação ao consumo de *L. leucocephala* (ALMEIDA et al., 2006). A resistência à toxina de *L. leucocephala* foi descrita na transferência das bactérias ruminais responsáveis pela detoxificação em cabras do Havaí para caprinos e bovinos da Austrália (CRAIG; BLYTHE, 1994).

Estudos realizados na Austrália demonstraram que a inoculação no rúmen de uma estirpe geneticamente modificada de *Butyrivibrio fibrisolvens* com um gene que codifica uma fluoroacetato dehalogenase, proveniente de uma espécie de *Moraxella*, foi eficiente em prevenir a intoxicação por monofluoroacetato de sódio (MFA) em ovinos (GREGG et al., 1998). Em outro estudo realizado em bovinos (PADMANABHA et al., 2000), a administração oral de cepas de *B. fibrisolvens* geneticamente modificadas foi capaz de reduzir os efeitos tóxicos do MFA; neste trabalho, nenhum bovino do grupo teste apresentou sinais clínicos da intoxicação.

No Brasil, estudos para implantar medidas de controle e profilaxia efetivas para as intoxicações por plantas que contenham MFA encontram-se em desenvolvimento pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para o Controle das Intoxicações por Plantas (INCTCIP). Em trabalhos realizados por este grupo de pesquisa foi demonstrado que a administração diária, por períodos alternados, de doses não tóxicas de *Amorimia septentrionalis* (DUARTE et al., 2013) e *Palicourea aeneofusca* (OLIVEIRA et al., 2013) induziu resistência contra intoxicações por essas plantas. Descreveu-se, também, que esta resistência pode ser transmitida de um animal resistente para um animal suscetível mediante a transfaunação de conteúdo ruminal (DUARTE et al., 2013). Esses resultados somados aos estudos realizados por Camboim et al. (2012a,b) sugerem algumas possibilidades a serem investigadas para o controle das intoxicações por plantas que contenham MFA: (1) administração repetida, por períodos alternados, de doses não tóxicas da planta; (2) administração de MFA em doses não tóxicas que permita a proliferação de bactérias que tenham atividade de dehalogenases; e (3) administração de outro substrato, não tóxico, que estimule a proliferação de bactérias com atividade de dehalogenases (DUARTE et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2013).

2.1 Intoxicação por plantas que causam morte súbita

No Brasil, as plantas denominadas como aquelas que causam morte súbita são consideradas as mais importantes no que diz respeito aos prejuízos econômicos; conhecidas por causarem insuficiência cardíaca aguda em ruminantes, são responsáveis por cerca de 500.000 mortes de bovinos por ano (TOKARNIA et al., 2012). As plantas que compõem esse grupo apresentam como característica comum produzir no animal intoxicado alterações que se traduzem, de maneira geral, por instabilidade, tremores musculares, relutância em se movimentar, dispneia,

taquicardia, normalmente se deita ou cai ao solo em decúbito lateral, movimentos de pedalagem, convulsão e morte (TOKARNIA et al., 2012; BECKER et al., 2013).

No mundo, já foram catalogadas cerca de 60 espécies de plantas causadoras de morte súbita, caracterizada por evolução superaguda ou aguda (até 48 horas), sendo que estas estão distribuídas principalmente nas regiões tropicais, subtropicais e temperadas, como na Austrália, África do Sul e América do Sul (TWIGG; KING, 1991; TWIGG et al., 1996; KELLERMAN et al. 2007).

Dentre as plantas tóxicas que causam morte súbita no Brasil, a *Palicourea marcgravii* é a planta tóxica mais importante, causando número elevado de perdas de bovinos em quase todo o país (GÓRNIAK; SPINOSA, 1990). Os principais motivos pelos quais é considerada como a principal planta tóxica estão relacionados a três fatores: apresenta ampla distribuição geográfica (HELAYEL et al., 2011) já que esta planta é encontrada em todo o país, com exceção da região Sul e do Estado de Mato Grosso do Sul (TOKARNIA et al., 2012); possui alta toxicidade, portanto, uma pequena quantidade de planta já promove a intoxicação e a morte do animal; apresenta alta palatabilidade para bovinos, deste modo, os animais consomem a planta mesmo quando há disponibilidade de forragem (TOKARNIA et al., 2012).

A *P. marcgravii* tem como princípio tóxico o MFA (OLIVEIRA, 1963; COOK et al., 2014), o qual tem sido isolado de diversas plantas tóxicas em outras partes do mundo. Na África do Sul, foi detectado esse mesmo princípio ativo na *Dichapetalum cymosum* (MARAIS, 1944; KELLERMAN et al., 2007) e, na Austrália, estudos químicos também revelaram a presença desta substância nas plantas *Acacia georginae*, *Oxylobium parviflorum* e *Gastrolobium grandiflorum* (APLIN et al., 1983).

No Brasil, o MFA foi isolado em *Palicourea aeneofusca* (LEE et al., 2012; COOK et al., 2014), *Palicourea amapaensis*, *Palicourea grandiflora*, *Palicourea aff. juruana*, *Palicourea longiflora*, *Palicourea aff. longiflora*, *Palicourea macarthurorum*, *Palicourea nigricans* e *Palicourea vacillans* (COOK et al., 2014), *Amorimia rigida* (CUNHA et al., 2012; LEE et al., 2012), *Amorimia septentrionalis* e *Amorimia pubiflora* (LEE et al., 2012), e *Tanaecium bilabiatum* (*Arrabidaea bilabiata*) (KREBS et al., 1994). Ressalta-se que, nos estudos de detecção e quantificação de MFA, há ampla variação na concentração desse princípio tóxico nas plantas mencionadas, o que pode ser observado até mesmo em amostras dentro de uma mesma espécie (COOK et al., 2014).

Dentre as espécies de plantas citadas, *Amorimia pubiflora* é uma das principais plantas causadoras de mortalidade em bovinos em Mato Grosso do Sul e ocorre principalmente nos municípios de Miranda, Porto Murtinho, Jardim, Bonito, Aquidauana, Três Lagoas e Paranaíba. É conhecida popularmente como “corona”, “cipó-prata” e “erva corona”, entre outras. Seu habitat preferencial são pastos recém-formados com solos ricos em matéria orgânica (PURISCO; LEMOS, 1998).

Experimentalmente em bovinos, há demonstrações de que a *A. pubiflora* em fase de brotação seja mais tóxica e que a maioria dos casos espontâneos da intoxicação ocorra nos meses de seca, que coincidem com a fase de brotação. No entanto, parece não haver a necessidade de condições especiais para que ocorra a intoxicação por *A. pubiflora* e que a simples presença da planta na pastagem seja suficiente. Há grande variação da toxicidade das folhas de acordo com a época do ano, entre 5 g/kg na época da seca a 20 g/kg na época de chuva (TOKARNIA et al., 2012). Em trabalho realizado por Pavarini et al. (2011), no Rio Grande do Sul, nos surtos de intoxicação por *Amorimia exotropica* (Malpighiaceae) em bovinos, planta que também cursa com morte súbita, os casos ocorreram durante todo o ano, com maior concentração nos meses de maio e agosto, e os autores relacionaram à carência de alimento nesta época do ano no Sul do Brasil.

Os sinais clínicos da intoxicação por *A. pubiflora* em ruminantes são caracterizados por relutância em se levantar, andar rígido e tremores musculares. O animal urina com frequência, permanece em posição quadrupedal por pouco tempo e deita-se repentinamente, evoluindo para decúbito lateral, com movimentos de pedalagem, mugidos e morte. A evolução pode ser superaguda (poucos minutos) a aguda (até 48 horas) e os sinais clínicos podem ser intensificados após exercício físico (TOKARNIA et al., 2012, BECKER et al., 2013).

A intoxicação por plantas que contêm o MFA não produz lesões macroscópicas e na maioria dos casos não são observadas lesões histológicas características (PAVARINI et al., 2011; TOKARNIA et al., 2012). Graus variáveis de degeneração hidrópico-vacuolar nos rins podem ser observados, no entanto, esta não é uma alteração específica, mas pode ser um achado diagnóstico em animais intoxicados por plantas que contêm esse princípio tóxico (OLIVEIRA et al., 2004; HELAYEL et al., 2009; NOGUEIRA et al., 2010; TOKARNIA et al., 2012).

O diagnóstico deve basear-se no histórico de mortes após movimentação do rebanho, na presença da planta e na histopatologia (LEMOS; LEAL, 2008). No

diagnóstico diferencial para a intoxicação por *A. pubiflora* em bovinos devem ser considerados carbúnculo hemático, acidente ofídico, descargas elétricas e intoxicação por outras plantas que causam morte súbita (LEMOS; LEAL, 2008; TOKARNIA et al., 2012).

O MFA, princípio tóxico isolado em plantas que causam morte súbita, é conhecido quimicamente também como ácido monofluoroacético e fluoroacetato de sódio, e pelo nome popular “mão branca” (BALLANI et al., 2008). É uma das substâncias mais tóxicas já descobertas (TWIGG; KING, 1991; ZURITA et al., 2007). Recebeu a denominação 1080, correspondente ao seu número de série, quando testado, entre milhares de outros compostos, como rodenticida na década de 1940 nos Estados Unidos (EASON, 2002). Ficou conhecido também como veneno de *gifblaar*, nome popular de *Dichapetalum cymosum*, uma importante planta tóxica africana, cujo MFA foi identificado (MARAIS, 1944; KELLERMAN et al., 2007).

O MFA foi sintetizado, primeiramente, na Bélgica em 1896 pelo químico Swarts (GRIBBLE, 1973), porém, naquela ocasião, ganhou pouca atenção de químicos e farmacologistas (ATZERT, 1971). De fato, nenhuma menção foi feita acerca de sua toxicidade até a década de 1920 quando foi, inicialmente, reconhecido o seu efeito nocivo contra insetos e patenteado como agente anti-traças (TWIGG; KING, 1991).

No Brasil, o MFA foi introduzido como rodenticida em 1965, entretanto, o seu emprego tornou-se restrito a campanhas públicas a partir de 1980 e, em 1982, sua fabricação, comercialização e uso foram proibidos pelo Ministério da Saúde (ADESP, 2007). Posteriormente, a sua utilização em produtos rodenticidas domissanitários foi legalmente proibida pela Portaria Nº 321, de 28 de Julho de 1997 (BRASIL, 1997). O seu comércio, bem como o de outras substâncias não regulamentadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), é considerado prática criminosa, tipificada como crime contra a saúde pública, devido ao risco à vida de pessoas. Entretanto, mesmo após tal proibição, o MFA ainda é ilegalmente comercializado por ambulantes e em estabelecimentos comerciais e utilizado de forma ilícita como rodenticida doméstico (APEVISA, 2009). Atualmente, o seu uso também é proibido em diversos países, como Alemanha, Japão, Panamá, Belize, Chile, Colômbia, El Salvador, Filipinas, Guatemala, México e Tailândia, devido a sua elevada toxicidade e potencial risco à saúde humana e ambiental (NIETO, 2001).

Por outro lado, continua amplamente empregado em outros países, sobretudo na Austrália (CHURCHILL et al., 2007) e Nova Zelândia (EASON; TURCK, 2002), onde seu uso é permitido com restrições (NIETO, 2001), no controle populacional de mamíferos nativos e outras espécies animais introduzidas no país que destroem plantações e comprometem a biodiversidade (CHURCHILL et al., 2007). Nos Estados Unidos, o MFA ainda é empregado, exclusivamente, nas chamadas “coleiras tóxicas” (EASON et al., 1999) e, na África do Sul, na proteção de rebanhos contra o chacal asiático (*Canis aureus*) (WALTON, 1990).

O MFA é rapidamente absorvido pelos tratos gastrintestinal e respiratório, mas não é bem absorvido através da pele intacta (ATZERT, 1971). Em geral, a toxicidade do MFA é a mesma independentemente se a via de administração do composto for oral, subcutânea, intramuscular, intraperitoneal ou intravenosa (WARD; SPENCER, 1947). Apesar da má absorção dérmica, o manuseio diário do produto por trabalhadores constitui risco potencial e, nestes casos, são adotados procedimentos rigorosos de segurança (EASON et al., 1999; EASON, 2002). Uma vez absorvido, o composto se distribui uniformemente nos tecidos, incluindo cérebro, coração, fígado e rim (PEACOCK, 1964). No entanto, antes do aparecimento dos primeiros sinais clínicos, há um período de latência que varia, em geral, entre 30 minutos a duas horas e meia após a administração do MFA, independentemente da via de administração empregada (EGEKEZE; OEHME, 1979). Mesmo quando doses elevadas são utilizadas, o início das manifestações clínicas não é imediato, embora o período latente seja reduzido (PATTISON, 1959). Esse período de latência corresponde ao intervalo de tempo necessário para que o MFA seja absorvido, entre nas células e, em especial, para que ocorra a conversão enzimática em seu metabólito tóxico, o fluorocitrato, em quantidade suficiente para alterar as funções intracelulares e induzir os sinais clínicos (PATTISON, 1959; ATZERT, 1971).

Sabe-se que a toxicidade do MFA ocorre, exclusivamente, pela ação do fluorocitrato, um metabólito tóxico formado no organismo por meio da denominada síntese letal (Figura 1) (KELLERMAN et al., 2007). O fluorocitrato bloqueia competitivamente a aconitase (KREBS et al., 1994) e impede a conversão do citrato em isocitrato, resultando no acúmulo de grandes quantidades de citrato nos tecidos. Com isso, há diminuição da produção de ATP e os processos metabólicos dependentes de energia são bloqueados (PETERS, 1952). É evidente que os órgãos que possuem alta taxa metabólica, como coração, cérebro e rim, são os mais

afetados (SUZUKI, 1999; KELLERMAN et al. 2007). Descreve-se que em ruminantes a morte sobrevinha pelo efeito intenso sobre o coração (SCHULTZ et al., 1982; KELLERMAN et al. 2007).

As doses orais tóxicas do MFA descritas nas diferentes espécies animais são: 0,096-0,2 mg/kg em caninos, 0,15-0,62 mg/kg em bovinos, 0,2-7 mg/kg em roedores, 0,25-0,5 mg/kg em ovinos, 0,3-0,4 mg/kg em suínos, 0,3-0,5 mg/kg em felinos, 0,3-0,7 mg/kg em caprinos, 0,5-2 mg/kg em humanos, 0,5-1,75 mg/kg em equinos e 10-30 mg/kg em aves (HUMPHREYS, 1988).

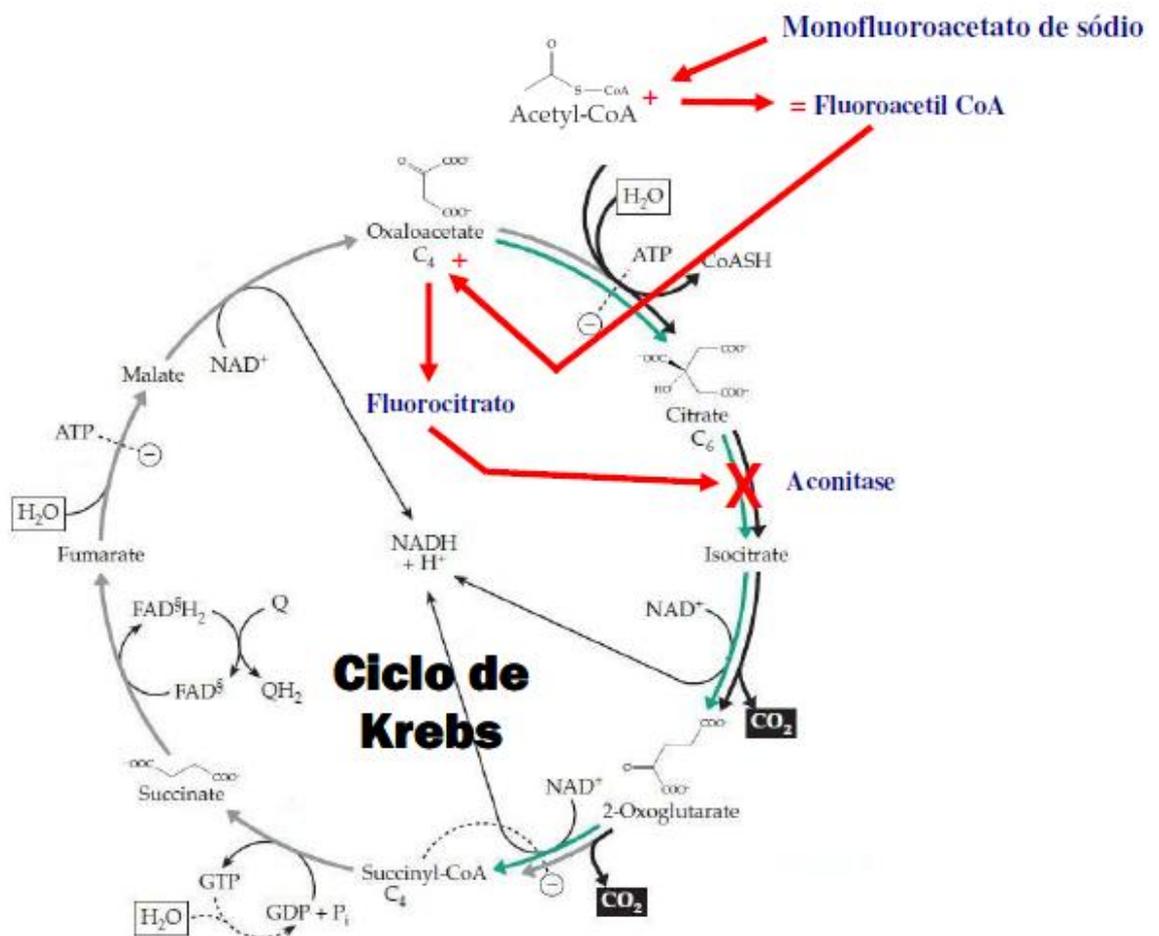


Figura 1 – Bloqueio do ciclo de Krebs pelo monofluoroacetato de sódio. Síntese letal. Adaptado de VICKERY; VICKERY, 1973; COLLICCHIO-ZUANAZE; SAKATE, 2005.

O efeito acumulativo do MFA é um fenômeno intimamente associado à amplitude do intervalo de tempo entre as administrações e a espécie em questão (ATZERT, 1971). De fato, a administração diária de 1/4 da LD₅₀ do MFA a cães domésticos resulta em convulsões e morte do animal após a quinta dose. Por outro lado, doses subletais maiores podem ser administradas a cães em dias alternados ou em intervalos maiores, sem o desenvolvimento de efeitos adversos (FOSS, 1948). Posteriormente, verificou-se também em ovinos que a administração de MFA, por via intravenosa, nas doses de 0,25 mg/kg e 0,1 mg/kg repetidas a cada três dias provocam sintomas e a morte dos animais, entretanto, quando o intervalo de tempo entre as administrações é aumentado, os animais manifestam apenas sinais leves (ANNISON et al., 1960).

Este efeito acumulativo também ocorre na ingestão de plantas que contêm o MFA como princípio tóxico. Descreveu-se que o tempo detoxificação do MFA em ruminantes é de cerca de 8-14 dias (TOKARNIA et al., 2012).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Para a execução desta tese foram elaboradas duas metodologias de estudo. Primeiramente, efetuou-se um levantamento sobre a frequência da intoxicação por *Amorimia pubiflora* em bovinos em MS, com base nos arquivos do Laboratório de Anatomia Patológica (LAP), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Posteriormente, avaliou-se a possibilidade de indução de resistência à intoxicação por MFA em ovinos, através da administração de doses não letais crescentes do princípio tóxico. Esta metodologia também propõe como objetivo, o desenvolvimento de um modelo experimental para a profilaxia e o controle das intoxicações por plantas que contenham MFA, como a *A. pubiflora*.

3.1 Intoxicação espontânea por *Amorimia pubiflora* em bovinos em MS

Para determinar a ocorrência da intoxicação por *Amorimia pubiflora* em bovinos em MS, realizou-se um estudo sobre a frequência das doenças tóxicas nos arquivos do LAP/FAMEZ, utilizando-se os laudos de necropsias e exames histopatológicos da espécie bovina, emitidos entre os meses de janeiro de 2000 e dezembro de 2012. Os dados foram obtidos em necropsias realizadas por médicos veterinários do LAP ou por profissionais autônomos que enviaram material para o exame histopatológico. Os casos experimentais, os materiais provenientes de outros estados e os diagnósticos inconclusivos foram excluídos desse estudo.

Foram consideradas doenças tóxicas aquelas causadas pela intoxicação por plantas, medicamentos, resíduo industrial de fruto cítrico, metais pesados, sais e acidentes ofídicos. Foram classificados como nefropatias tóxicas os casos com lesões características de processos degenerativos, nos quais havia fortes evidências de consumo de plantas tóxicas e outras causas de nefropatia foram descartadas. Desta forma, as doenças tóxicas dos bovinos foram agrupadas em: intoxicações por plantas (ação tóxica ou mecânica) e outras doenças tóxicas. A intoxicação por polpa cítrica foi categorizada dentro das intoxicações por plantas de acordo com Tokarnia et al. (2012).

Por meio da revisão dos laudos, o levantamento foi distribuído por número de casos; quando um ou mais materiais de uma mesma propriedade foram remetidos ao LAP/FAMEZ, estes foram agrupados em surtos, de acordo com Thrusfield (2004).

Dos laudos de necropsia foram obtidos dados epidemiológicos (idade, procedência, época de ocorrência, morbidade e letalidade), sinais clínicos e achados patológicos. O diagnóstico definitivo de intoxicação por plantas foi baseado na epidemiologia, nos sinais clínicos e achados patológicos associados à presença da planta na pastagem com evidência de ingestão da mesma pelos bovinos afetados.

Os coeficientes de morbidade e letalidade foram calculados com base na população sob risco, sendo esta considerada como o número de bovinos no lote problema.

3.2 Indução de resistência pela administração de doses não letais crescentes de MFA em ovinos

Para a realização do experimento, foram utilizados 18 ovinos divididos aleatoriamente em dois grupos. Os ovinos eram provenientes de áreas sem a ocorrência da intoxicação por plantas do gênero *Amorimia*, sem raça definida, sendo 16 machos não castrados e duas fêmeas, com cinco a sete meses de idade e pesos entre 20-40 kg, previamente vermifugados (Nitroxinil 34%). Os ovinos foram mantidos em baias individuais com área de 2,0 m², alimentados com ração comercial para a espécie (equivalente a 1% do peso vivo), feno de *Cynodon dactylon* (Tifton), sal mineral e água à vontade. Cada ovino recebeu um número de identificação (Ovinos 1-18) e foi submetido ao exame físico completo antes da administração do MFA.

O Grupo 1 (G1) foi constituído por nove ovinos machos, não castrados, que receberam doses crescentes não letais de MFA por seis períodos: 0,05 mg/Kg por cinco dias; 0,08 mg/Kg por quatro dias; 0,08 mg/Kg por quatro dias; 0,1 mg/Kg por três dias; 0,1 mg/Kg por três dias e 0,25 mg/Kg por três dias. Entre o primeiro e o segundo período de administração, e entre o segundo e o terceiro período, os animais não receberam o MFA por 10 dias consecutivos; entre o terceiro e o quarto período, e dentre os demais períodos de administração, os ovinos permaneceram 15 dias sem ingerir o MFA. Estes períodos de intervalo são necessários para que ocorra a detoxificação do MFA. Durante cada período de fornecimento do MFA foram realizados exames físicos que consistiam em verificação das frequências cardíaca e respiratória, da temperatura retal, da motilidade ruminal e do comportamento do animal. Quinze dias após o último período de administração, os ovinos foram desafiados com a dose única de 1 mg/Kg de MFA. As doses

administradas foram estabelecidas com base naquelas descritas por Humphreys (1988) e Peixoto et al. (2010); a metodologia foi adaptada de Duarte et al. (2013) e Oliveira et al. (2013). O Grupo 2 (G2), considerado como grupo controle positivo, foi composto por sete ovinos machos não castrados e duas fêmeas. Estes ovinos receberam dose única de 1 mg/Kg de MFA no mesmo período em que o G1 foi desafiado.

Durante o período de desafio (dose única de 1 mg/Kg de MFA), os ovinos foram observados em intervalos de duas horas, no entanto, com o início dos sinais clínicos, o intervalo de observação foi reduzido para a cada 30 minutos. Não houve movimentação dos animais em nenhum momento após a administração da dose tóxica de MFA.

Para o experimento utilizou-se o MFA (Sigma-Aldrich Co¹), com grau de pureza >95%, diluído no momento da administração com 10 mL de água destilada. Os ovinos que morreram foram necropsiados imediatamente após a morte, com a coleta de todos os órgãos, fixados em formol tamponado a 10%. Após a fixação, os fragmentos foram clivados, desidratados em álcool etílico absoluto, diafanizados em xilol, incluídos em parafina e cortados em micrótomo à espessura de 4 μ , e os cortes corados pela hematoxilina-eosina (HE) para exame histopatológico. Para o cálculo de mortalidade foram avaliados os grupos G1 e G2 separadamente, considerando a relação entre a frequência absoluta de óbitos e o número de animais sob risco.

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMS e protocolado sob o nº 537/2013.

¹Sigma-Aldrich, 3050 Spruce Street, St Louis, MO 63103, USA <<http://www.sigma-aldrich.com>>

4 RESULTADOS

4.1 Intoxicação espontânea por *Amorimia pubiflora* em bovinos em MS

De janeiro de 2000 a dezembro de 2012, o LAP/FAMEZ arquivou 8535 laudos patológicos relativos às diversas espécies animais de interesse veterinário. Desses, 5.456 (64%) referem-se à espécie bovina, porém foram excluídos 3.097 (56,76%) diagnósticos por se tratarem de materiais oriundos de outros estados, casos experimentais ou diagnósticos inconclusivos. Dos 2.359 (43,24%) diagnósticos conclusivos, as doenças tóxicas corresponderam a 151 (6,4%) diagnósticos.

Os dados descritos para cada doença são pontuais, ou seja, foram coletados no momento da requisição dos exames, podendo não corresponder ao total de bovinos afetados em um surto. Nestes surtos, o número de bovinos afetados foi, na maioria das vezes, maior que o número de necropsias realizadas. Na tabela 1 está sumarizada a relação completa das doenças tóxicas (intoxicações por plantas e outras doenças tóxicas), distribuídas em número de casos e surtos, com a respectiva porcentagem, a idade dos bovinos afetados e os coeficientes de morbidade e letalidade.

Foram diagnosticados surtos de intoxicações por 14 espécies de plantas, das quais as principais, em ordem decrescente, foram: intoxicações por *Brachiaria* spp. (27,88%), *Vernonia rubricaulis* (25%), *Amorimia pubiflora* (11,54%) (Figura 2), *Senna occidentalis* e *Senna obtusifolia* (8,65%), *Enterolobium contortisiliquum* e polpa cítrica (3,85% cada). As intoxicações por plantas corresponderam a 5,6% dos diagnósticos obtidos no período estudado.

Na intoxicação por *A. pubiflora* não houve registro de casos nos meses de fevereiro, julho, agosto e novembro durante o período estudado. Foram registrados 17 casos, distribuídos em 12 surtos, e os bovinos afetados tinham entre 12 e 96 meses de idade. Os sinais clínicos descritos se caracterizavam por tremores musculares, relutância à movimentação, queda e morte. Os proprietários relataram que a manifestação do quadro clínico ocorria logo após a movimentação dos bovinos no mangueiro ou para o transporte. Em todos os surtos, não foram observadas alterações macroscópicas e histopatológicas significativas.

Tabela 1 - Doenças tóxicas diagnosticadas em bovinos pelo Laboratório de Anatomia Patológica (LAP), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), durante o período de 2000-2012.

Doenças tóxicas de Bovinos						
Intoxicações por plantas	Nº casos	Nº surtos	% dos surtos	Idade (meses)	Morbidade (%)	Letalidade (%)
<i>Brachiaria</i> spp.	29	29	27,88	6-144	0,03-37,5	10-100
<i>Vernonia rubricaulis</i>	30	26	25,0	14-60	0,25-100	76,92-100
<i>Amorimia pubiflora</i>	17	12	11,54	12-96	0,05-6,55	24-100
Nefropatia Tóxica	13	10	9,62	2-36	0,08-100	10-100
<i>Senna occidentalis</i> e/ou <i>S. obtusifolia</i>	18	9	8,65	12-36	0,17 - 3,88	11,11-100
<i>Enterolobium contortisiliquum</i>	4	4	3,85	18-60	2,06-3,53	40-83,33
Polpa Cítrica	5	4	3,85	18-24	2,69-4,26	71,43-100
<i>Stylosanthes</i> spp.	3	3	2,88	15 - 26	0,02	100
<i>Tetrapteryx multiglandulosa</i>	5	2	1,92	24 - 36	3,16 - 79,31	3,04 -100
<i>Simarouba versicolor</i>	2	1	0,96	36	2,85	94,74
<i>Crotalaria</i> spp.	1	1	0,96	30	0,09	100
<i>Pterodon emarginatus</i>	1	1	0,96	>24	NI ^a	NI
<i>Solanum malacoxylon</i>	1	1	0,96	NI	1,67	2
<i>Manihot</i> spp.	3	1	0,96	24 - 36	100	100
TOTAL	132	104	100,00			
Outras doenças tóxicas	Nº casos	Nº surtos	% dos surtos	Idade (meses)	Morbidade (%)	Letalidade (%)
Chumbo	10	4	30,77	24-36	0,06-16,31	50-100
Ureia	3	3	23,08	36	0,6-10	100
Cloreto de Sódio	2	2	15,38	15-24	NI	100
Acidente Ofídico	2	2	15,38	36-150	1,25	100
Abamectina	2	2	15,38	10 - 24	5,4 - 14,06	55,56 - 93,33
TOTAL	19	13	100,00			

^aNI - Não Informado



Figura 2 – *Amorimia pubiflora* em uma propriedade onde ocorreram surtos de intoxicação em bovinos. No detalhe, inflorescência.

De janeiro de 2000 a dezembro de 2012, aproximadamente 11,11% dos diagnósticos de doenças tóxicas realizados em bovinos foram atribuídos ao grupo outras doenças tóxicas. Dentre estas se destacam, em ordem decrescente, as intoxicações por chumbo (30,77%), ureia (23,08%), cloreto de sódio (15,38%), abamectina (15,38%) e os acidentes ofídicos (15,38%).

4.2 Indução de resistência pela administração de doses não letais crescentes de MFA em ovinos

No Grupo 1, durante os cinco primeiros períodos de indução de resistência, nenhum animal apresentou sinais clínicos de intoxicação por MFA. No último período (0,25 mg/Kg de MFA por três dias), os Ovinos 1 e 3 apresentaram apatia, hiporexia a anorexia, leves tremores nos membros pélvicos, cabeça e pescoço, micção frequente, ataxia, espasticidade, relutância em andar e decúbito esternal a maior parte do tempo. Os sinais clínicos foram observados cerca de 14 horas e sete horas, respectivamente, após a terceira dose de 0,25 mg/Kg de MFA. Os Ovinos 1 e 3 mostraram melhora do quadro clínico com recuperação 58 horas e 66 horas,

respectivamente, após a terceira administração do MFA. Estes animais foram mantidos no experimento para o período de desafio.

No período de desafio com dose única de 1,0 mg/Kg de MFA, para o Grupo 1, o tempo decorrido entre a administração e a manifestação dos primeiros sinais clínicos variou de cinco a 24 horas. A evolução da intoxicação foi de 1h10min a 39h50min para os Ovinos 1, 2, 3 e 4. Em dois animais (Ovinos 6 e 9), não foram observados sinais clínicos da intoxicação por MFA, no entanto, foram encontrados mortos 14h e 12h58min, respectivamente, após a administração do princípio tóxico. Apenas um animal (Ovino 5) demonstrou recuperação clínica cerca de 72h após os primeiros sinais da intoxicação. Os Ovinos 7 e 8 não manifestaram sinais clínicos da intoxicação por MFA.

Nos sete ovinos do Grupo 1, em que foram observados sinais clínicos, verificaram-se apatia, anorexia, ataxia, tremores musculares em membros, cabeça e pescoço, depressão, relutância em andar e dificuldade quando iam deitar-se, dispneia e grunhidos expiratórios, hiperexcitação e decúbito esternal a maior parte do tempo. Na fase final, em geral, os animais caíam em decúbito lateral com movimentos de pedalagem, apresentavam taquipneia, opistótono, nistagmo, esticavam os membros e morriam.

No Grupo 2, o intervalo entre a administração do MFA e a manifestação dos sinais clínicos ocorreu entre oito e 24 horas, com evolução clínica de 39min a 15h15min. Dois animais (Ovinos 10 e 15) apresentaram recuperação do quadro clínico 82h após demonstrarem sinais de intoxicação. Os sinais clínicos consistiam em ataxia, tremores musculares em membros, cabeça e pescoço, micção frequente, hiporexia, relutância em andar, decúbito esternal a maior parte do tempo, quedas em decúbito lateral com movimentos de pedalagem, opistótono e nistagmo.

As alterações macroscópicas foram semelhantes para os Grupos 1 e 2 (Figura 3), caracterizadas por aurículas, veias cava caudal e cranial, jugulares, ázigos, costo cervical, ilíacas e pulmonares leve a acentuadamente ingurgitadas, discreto a moderado hidropericárdio e raras petéquias no pericárdio. Os pulmões apresentavam-se não colapsados (“armados”), lisos, brilhantes, pesados, com áreas irregulares avermelhadas e discretamente congestos. Havia discreta quantidade de espuma esbranquiçada na traqueia próximo à bifurcação dos brônquios. O fígado estava acastanhado intercalado com áreas irregulares avermelhadas. Os rins apresentavam cortical pálida ao corte em sete animais (Ovinos 1, 4, 9, 11, 12, 13 e

16) e, nos demais, cortical e medular difusamente avermelhadas. No miocárdio do Ovino 3 havia áreas pálidas.

Os principais achados histopatológicos foram observados no rim, fígado e coração. No rim de todos os ovinos avaliados havia discreta a moderada deposição de material amorfo eosinofílico na luz de túbulos contorcidos e no espaço capsular. Apenas oito ovinos (Ovinos 2, 3, 4, 6, 12, 13, 17 e 18) apresentaram discreta a moderada tumefação e vacuolização (degeneração hidrópico-vacuolar) dos túbulos contorcidos distais associadas à picnose nuclear (Figura 4). Havia ainda discreta a moderada tumefação e vacuolização dos túbulos contorcidos proximais (Ovinos 1, 2, 3, 9, 17 e 18), múltiplos focos discretos de infiltrado linfoplasmocitário intersticial (Ovinos 1 e 16) e discreta a moderada congestão. No fígado, em geral, observaram-se discreta a acentuada tumefação e vacuolização difusa dos hepatócitos e discreta necrose individual aleatória de hepatócitos (Figura 5). Em um animal (Ovino 18) havia cirrose hepática associada a cristais birrefringentes na luz de ductos biliares e macrófagos espumosos, no entanto, este ovino não apresentava sinais clínicos de intoxicação por *Brachiaria* spp. No coração de nove ovinos (Ovinos 1, 3, 4, 6, 9, 12, 13, 14 e 16) havia discreta vacuolização intracitoplasmática das fibras musculares e discreta retração celular, aumento da eosinofilia e picnose nuclear em fibras musculares individuais aleatórias. No cerebelo e em fragmentos de córtex do Ovino 18, observaram-se discretas formações vacuolares de diferentes tamanhos na substância branca próximo à junção com a substância cinzenta. Nos demais órgãos não foram encontradas alterações significativas.

Os coeficientes de mortalidade foram de 66,6% para o Grupo 1 e de 77,7% para o Grupo 2.

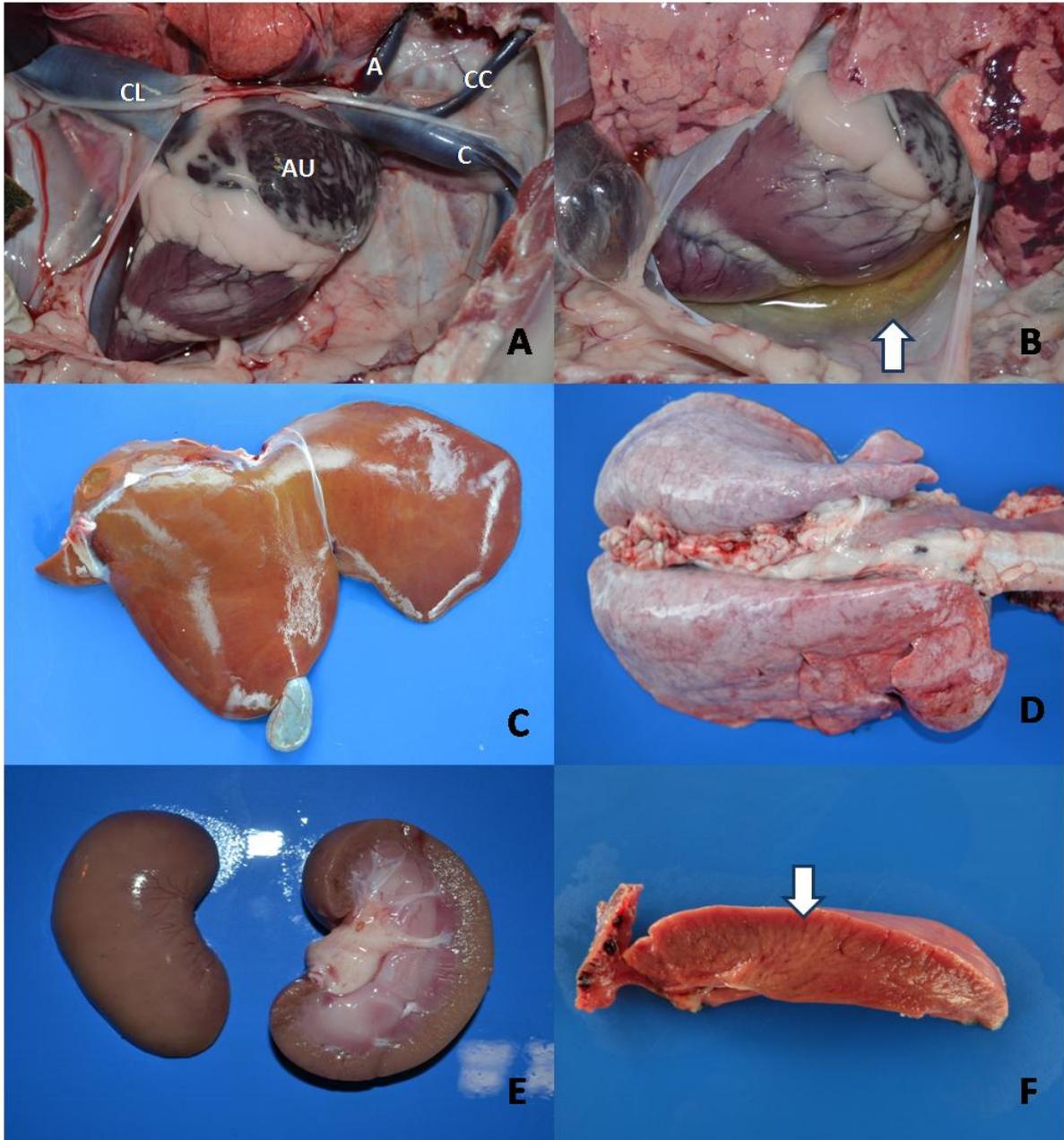


Figura 3 – Lesões macroscópicas observadas nos ovinos intoxicados por monofluoroacetato de sódio (MFA): A – Aurículas (AU), veias cavas caudal (CL) e cranial (C), ázigos (A) e costo cervical (CC) acentuadamente ingurgitados; B – Moderado hidropericárdio (seta); C – Fígado acastanhado intercalado com áreas avermelhadas; D – Pulmões não colapsados (“armados”), lisos, brilhantes, pesados, com áreas irregulares avermelhadas; E – Os rins apresentavam cortical pálida ao corte; F – No coração havia áreas pálidas no miocárdio (seta).

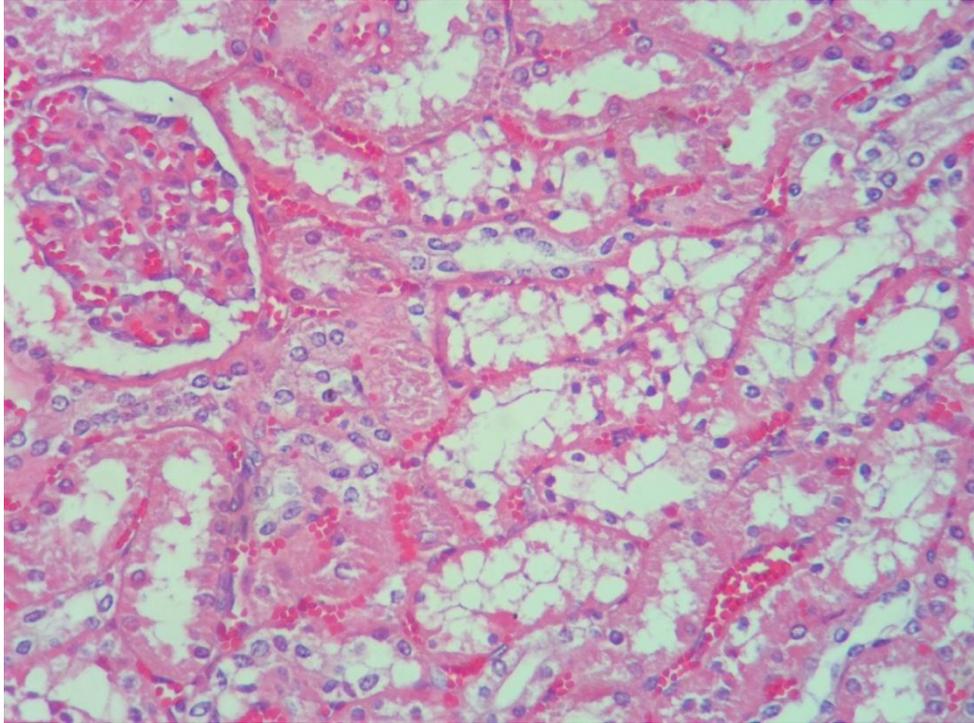


Figura 4 – Rim. Ovino. Discreta a moderada tumefação e vacuolização (degeneração hidrópico-vacuolar) dos túbulos contorcidos distais associadas à picnose nuclear. HE, obj. 10X.

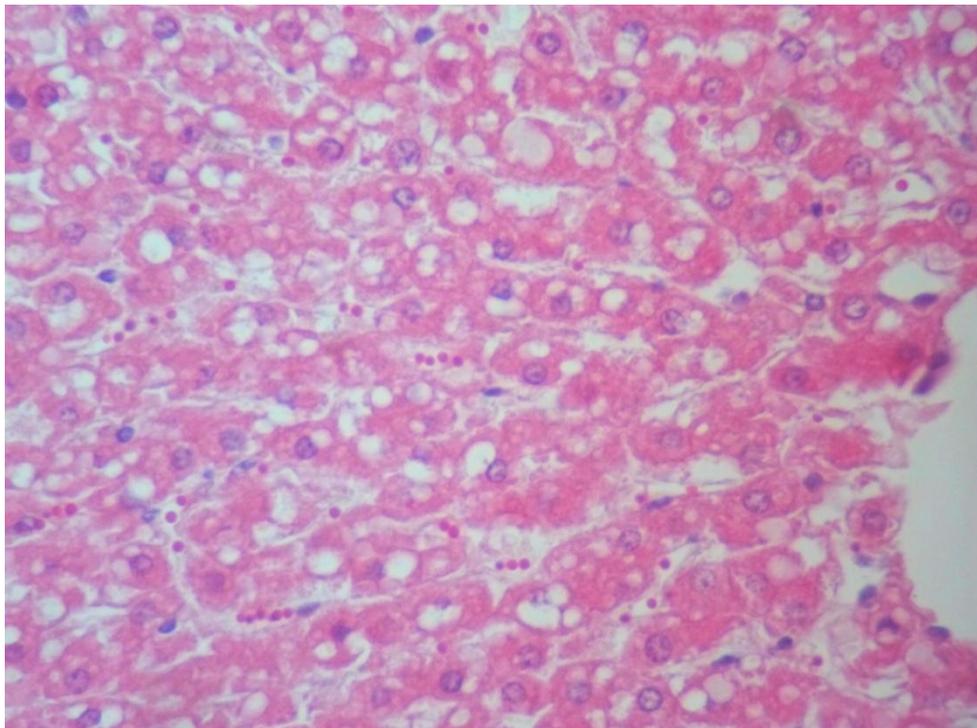


Figura 5 – Fígado. Ovino. Acentuada tumefação e vacuolização difusa dos hepatócitos e discreta necrose individual aleatória de hepatócitos. HE, obj. 10X.

5 DISCUSSÃO

As intoxicações por plantas constituem importantes causas de mortalidade em bovinos em Mato Grosso do Sul, representando aproximadamente 5,6% dos diagnósticos conclusivos realizados durante o período estudado. O percentual obtido neste estudo é menor do que o observado por outros laboratórios de diagnóstico no Brasil. No Rio Grande do Sul, casos de intoxicações por plantas representam, aproximadamente, 7% a 16% dos diagnósticos de morte em bovinos (RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001; PEDROSO et al., 2007; RISSI et al., 2007). Na Paraíba, esse índice atinge 7,4% (ASSIS et al., 2010) e, em Santa Catarina, aproximadamente 14% (RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001). Os fatores que podem ter contribuído para isso estão relacionados ao elevado número de materiais encaminhados com diagnósticos inconclusivos, devido principalmente ao envio de históricos clínicos e dados epidemiológicos incompletos ou ausentes, ou à subnotificação dos casos por produtores e médicos veterinários autônomos. Assim, é provável que o número de casos de intoxicação por plantas no estado seja ainda maior. Considerando que a população de bovinos de Mato Grosso do Sul, estimada em 21 milhões de cabeças, é superior à dos estados acima mencionados (BRASIL, 2012), o total de bovinos acometidos é maior que o observado nestas regiões, e que, no Brasil, a estimativa de mortalidade anual de bovinos é de aproximadamente 5% (CORRÊA et al., 2000), a perda de bovinos em Mato Grosso do Sul relacionada às plantas tóxicas pode ser estimada em 60 mil cabeças por ano.

Amorimia pubiflora foi diagnosticada em 12 surtos (11,54%), representando uma das principais plantas tóxicas em MS. Os proprietários e responsáveis pelos animais relataram que as mortes ocorreram após a movimentação dos bovinos no mangueiro ou durante o embarque e esta condição é descrita em outros casos espontâneos de intoxicação por *A. pubiflora* em bovinos (BECKER et al., 2013). Nos meses de fevereiro, julho, agosto e novembro não houve casos diagnosticados. Os surtos ocorreram independentemente da disponibilidade de forragem, no entanto, relata-se frequentemente que as mortes se concentrem principalmente no final do período da seca e início do período chuvoso, o que coincide com a fase de brotação, período vegetativo de maior toxicidade da planta (TOKARNIA et al., 2012). Em trabalho realizado por Pavarini et al. (2011) no Rio Grande do Sul, nos surtos de intoxicação por *Amorimia exotropica* (Malpighiaceae), planta que também cursa com

morte súbita, os casos ocorreram durante todo o ano, com maior concentração nos meses de maio e agosto, o que os autores relacionaram à carência de alimento nesta época do ano no Sul do Brasil.

Os sinais clínicos observados nos surtos de intoxicação por *A. pubiflora* são semelhantes aos descritos em outros casos espontâneos de intoxicação pela planta em bovinos (PAVARINI et al., 2011; BECKER et al., 2013), nos quais também foram verificados taquicardia, relutância à movimentação, tremores musculares, apatia, dispneia, decúbito esternal, ingurgitamento e pulso jugular, quedas bruscas com movimentos de pedalagem e opistótono. Neste estudo, não foram encontradas lesões macroscópicas e histopatológicas significativas, no entanto, lesões de degeneração hidrópico-vacuolar associada à picnose nuclear das células epiteliais dos túbulos contorcidos distais são descritas em casos espontâneos e experimentais da intoxicação em bovinos (TOKARNIA et al., 2012; BECKER et al., 2013). Esta não é uma alteração específica, mas é um importante achado diagnóstico em animais intoxicados por plantas que contêm MFA (HELAYEL et al., 2009). O diagnóstico desta intoxicação deve basear-se no histórico de mortes após movimentação do rebanho, na presença da planta e em lesões microscópicas no rim, quando presentes (LEMO; LEAL, 2008; TOKARNIA et al., 2012).

A metodologia utilizada para induzir a resistência à intoxicação por MFA em ovinos não foi eficiente. Ainda que, no Grupo 1, três ovinos tenham sobrevivido, dos quais dois (Ovinos 7 e 8) não apresentaram nenhuma manifestação clínica de intoxicação e um animal (Ovino 5) recuperou-se em 72 horas após os primeiros sinais da intoxicação, o coeficiente de mortalidade foi de 66,6%, enquanto para o Grupo2 esse coeficiente foi de 77,7%. Em estudos anteriores para indução de resistência à intoxicação por *A. septentrionalis* (DUARTE et al., 2013) e *P. aeneofusca* (OLIVEIRA et al., 2013), com a administração de doses não letais crescentes dessas plantas, nenhum caprino morreu durante ou após o período de desafio. Em ambos os experimentos, todos os animais do grupo controle adoeceram e houve 33,3% de mortalidade nesse grupo controle, no qual os caprinos não tinham sido adaptados ao consumo da planta.

Embora neste estudo a presença de bactérias que degradem o MFA não tenha sido avaliada, este é o principal mecanismo proposto para a ocorrência da resistência à intoxicação por plantas que têm o MFA como princípio tóxico (DUARTE et al., 2013). Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que existem

ovinos naturalmente resistentes à intoxicação, corroborando as observações de relatos anteriores em que animais criados em áreas livres da planta podem conter bactérias que degradam o MFA em seu rúmen (CAMBOIM et al., 2012b). Porém, a administração de doses não letais crescentes de MFA não foram capazes de provocar o crescimento da população destas bactérias ao ponto de induzir a resistência ao desafio com 1,0 mg/Kg de MFA. Estudos realizados na Austrália demonstraram que a inoculação no rúmen de uma estirpe geneticamente modificada de *Butyrivibrio fibrisolvens* com um gene que codifica uma fluoroacetato dehalogenase, proveniente de uma espécie de *Moraxella*, foi eficiente em prevenir a intoxicação por MFA em ovinos (GREGG et al., 1998).

A dose tóxica de MFA empregada durante o período de desafio corresponderia a 16,6 g/kg de *A. pubiflora*, se considerar a concentração de 0,006% de MFA encontrada em amostras de *A. pubiflora* mantidas no Herbário da Universidade de Michigan (LEE et al., 2012). Desta forma, a dose tóxica utilizada estaria de acordo com a variação de toxicidade da planta observada para a espécie bovina (0,5 g/kg – 20,0 g/kg) e ovina (1,5 g/kg – 20,0 g/kg) (TOKARNIA; DÖBEREINER, 1973; BECKER et al., 2013). Ressalta-se que, no estado de Mato Grosso do Sul, a *A. pubiflora* é uma das plantas tóxicas mais importantes, responsável por surtos de morte súbita em bovinos (LEMOS et al., 2011).

Graus variáveis de degeneração hidrópico-vacuolar ocorreram em 61,5% dos ovinos deste estudo, diferentemente do observado por Peixoto et al. (2010), em que todos os ovinos intoxicados com MFA apresentaram lesão renal. Esta não é uma alteração específica, mas pode ser um achado diagnóstico em animais intoxicados por plantas que contêm esse princípio tóxico (OLIVEIRA et al., 2004; HELAYEL et al., 2009; NOGUEIRA et al., 2010; TOKARNIA et al., 2012). As lesões hepáticas de tumefação e vacuolização foram observadas em todos os ovinos, com intensidade discreta a moderada e distribuição difusa. Alterações semelhantes foram descritas em um ovino intoxicado por MFA, no entanto, a lesão se restringia, predominantemente, a regiões periportais (PEIXOTO et al., 2010). No coração de nove ovinos havia discreta necrose de coagulação de fibras musculares individuais, caracterizada por retração celular, aumento da eosinofilia do citoplasma com perda das estriações e núcleos picnóticos, além de vacúolos intracitoplasmáticos observados em algumas células. Esta alteração já foi descrita em bovinos (PAVARINI et al., 2012) e caprinos (OLIVEIRA et al., 2013) intoxicados por plantas

que contêm o MFA. Em bovinos intoxicados por *A. exotropicalis* descrevem-se também áreas multifocais e coalescentes de fibrose cardíaca (SOARES et al., 2012).

Em trabalhos anteriores, foi comprovado que a administração de doses não tóxicas de plantas que contêm MFA aumenta a resistência contra a intoxicação por essas plantas e foi elaborada a hipótese de que doses não tóxicas de MFA poderiam também aumentar a resistência à intoxicação por essa substância (DUARTE et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2013). Os resultados deste trabalho sugerem que a administração repetida de doses não tóxicas de MFA não protege contra a intoxicação aguda por esta substância, portanto, outras alternativas para o controle das intoxicações por plantas que contêm MFA deverão ser pesquisadas, principalmente a utilização de bactérias que hidrolisam MFA.

REFERÊNCIAS

- ADESP, 2007. **Associação das Empresas Controladoras de Pragas do Estado de São Paulo**. Disponível em: <<http://www.adesp.org.br/noticias/noticias.php>>. Acesso em: 14 jun. 2014.
- ALMEIDA, A. P. M. G.; KOMMERS, G. D.; NOGUEIRA, A. P. A.; JUNIOR, L. G. B.; MARQUES, B. M. F. P.; LEMOS, R. A. A. Avaliação do efeito tóxico de *Leucaena leucocephala* (Leg. Mimosoideae) em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 190-194, 2006.
- ANNISON, E. F.; COLINA, K. J.; LINDSAY, D. B.; PETERS, R. A. Fluoroacetate poisoning in sheep. **Journal of Compared Pathology**, v. 70, p. 145-155, 1960.
- APEVISA, 2009. **Apevisa apreende 302 frascos com raticida ilegal**. Disponível em: <<http://www.saude.pe.gov.br/noticias.php?codigo=>>>. Acesso em: 14 jun. 2014.
- APLIN, T. E. H. Poison plants of Western Australian. Toxic species of genera *Gastrolobium* and *Oxylobium*. **Journal of Agriculture, Western Australian**, v. 8, p. 42-52, 1968.
- ASSIS, T. S.; MEDEIROS, R. M. T.; RIET-CORREA, F.; GALIZA, G. J. N.; DANTAS, A. F. M.; OLIVEIRA, M. D. Intoxicações por plantas diagnosticadas em ruminantes e equinos e estimativa das perdas econômicas na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 30, n. 1, p. 13-20, 2010.
- ATZERT, S. P. A review of sodium monofluoroacetate (Compound 1080), its properties, toxicology, and use in predator and rodent control. **Special Scientific Report – Wildlife**, n. 146, 1971, 34 p.
- BALLANI, T. S. L. et al. Intoxicação por produtos clandestinos em Maringá-Paraná. In: Congresso de Toxicologia Clínico-laboratorial. 1., 2008, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: [s.n.], 2008. Não paginado.
- BECKER, M.; CALDEIRA, F. H. B.; CARNEIRO, F. M.; OLIVEIRA, L. P.; TOKARNIA, C. H.; RIET-CORREA, F.; LEE, S. T.; COLODEL, E. M. Importância da intoxicação por *Amorimia pubiflora* (Malpighiaceae) em bovinos em Mato Grosso: reprodução experimental da intoxicação em ovinos e bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 9, p. 1049-1056, 2013.
- BRASIL. Portaria nº 321, de 28 de julho de 1997. **Normas Gerais para Registro de Desinfetantes Domissanitários**. Disponível em: <<http://www.pragas.com.br/legislacao/bancodedados/port321-97.php>>. Acesso em: 14 jun. 2014.
- BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção de Pecuária Municipal, v. 39. Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2011. Acesso em: 5 dez. 2012.

CAMBOIM, E. K. A.; TADRA-SFEIR, M. Z.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O.; ANDRADE, P. P.; MCSWEENEY, C. S.; RIET-CORREA, F.; MELO, M. A. Defluorination of sodium fluoroacetate by bacteria from soil and plants in Brazil. **Scientific World Journal**, 2012:149893, 2012a.

CAMBOIM, E. K. A.; ALMEIDA, A. P.; TADRA-SFEIR, M. Z.; JUNIOR, F. G.; ANDRADE, P. P.; MCSWEENEY, C. S.; RIET-CORREA, F.; MELO, M. A. Isolation of sodium fluoroacetate degrading bacteria from caprine rumen in Brazil. **Scientific World Journal** 2012:178254, 2012b.

CARVALHO, N. M.; ALONSO, L. A.; CUNHA, T. G.; RAVEDUTTI, J.; BARROS, C. S. L.; LEMOS, R. A. A. Intoxicação de bovinos por *Tetrapteryx multiglandulosa* (Malpighiaceae) em Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 139-146, 2006.

CARVALHO, N. M.; BACHA, F. B.; SANTOS, A. C. ; CARVALHO, A. Q. ; FACCIN, T. C. ; POTT, A.; LEMOS, R. A. A. . Spontaneous and experimental intoxication of cattle by *Simarouba versicolor* A. St.-Hill (Simaroubaceae). **Toxicon**, v. 64, p. 55-59, 2013.

CASTRO, M. B.; MOSCARDINI, A.; BORGES, J. R.; RIET-CORREA, F. **Susceptibilidade de ovinos a intoxicação por *Brachiaria decumbens***. In: V Congresso Latinoamericano de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos, Memorias. Mendoza: Asociación Latinoamericana de Especialistas en pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos, v. 5. p. 57-59, 2007.

CHURCHILL, R.; CORKHILL, C.; RICHARD, M. **1.080 poisoning in dogs**. 2007. Disponível em: <<http://www.theveterinarian.com.au/features/article685.asp>>. Acesso em: 14 jun. 2007.

COLLICCHIO-ZUANAZE, R. C.; SAKATE, M. Aspectos clínicos e terapêuticos da intoxicação por fluoroacetato de sódio em animais domésticos: revisão. **Veterinária Notícias**, v. 11, n. 2, p. 81-89, 2005.

COOK, D.; LEE, S. T.; TAYLOR, C. M; BASSÜNER, B.; RIET-CORREA, F.; PFISTER, J. A.; GARDNER, D. R. Detection of toxic monofluoroacetate in *Palicourea* species. **Toxicon**, v. 80, p. 9-16, 2014.

CORRÊA, S. E.; VIEIRA, A.; COSTA, P. F.; CEZAR, M. I. Sistema semi-intensivo de produção de carne de bovinos Nelore no Centro-Oeste do Brasil. **Embrapa Gado de Corte**, Campo Grande, MS, p. 5, 2000.

CRAIG, A. M.; BLYTHE, L. L. **Review of ruminal microbes relative to detoxification of plant toxins and environmental pollutants**. In: COLEGATE, S. M.; DORLING, P. R. Plant associated toxins. Wallingford, CAB International, p.462-467, 1994.

CUNHA, L. C.; PÍPOLE, F.; CARVALHO, L. R.; LAGO, J. H. G.; GÓRNIK, S. L. Isolation and characterization of sodium 2-fluoroacetate from *Mascagnia rígida* using chromatography and infrared spectroscopy. **Toxicon**, v. 60, p. 329-332, 2012.

DUARTE A, L. L.; MEDEIROS, R. M. T.; CARVALHO, F. K. L.; LEE, S.T.; COOK, D.; PFISTER, J. A.; COSTA, V. M. M.; RIET-CORREA, F. Induction and transfer of resistance to poisoning by *Amorimia* (*Mascagnia*) *septentrionalis* in goats. **Journal of Applied Toxicology**. DOI 10.1002/jat.2860, 2013.

EASON, C. T.; WICKSTROM, M.; TURCK, P.; WRIGHT, G. R. G. A review of recent regulatory and environmental toxicology studies on 1080: Results and implications. **New Zealand Journal of Ecology**, v. 23, n. 2, p. 129-137, 1999.

EASON, C. Sodium monofluoroacetate (1080) risk assessment and risk communication. **Toxicology**, v. 181/182, p. 523-530, 2002.

EASON, C. T.; TURCK, P. A 90-day toxicological evaluation of compound 1080 (Sodium Monofluoroacetate) in Sprague-Dawley Rats. **Toxicological Sciences**, v. 69, p. 439-447, 2002.

EGEKEZE, J. O.; OEHME, F. W. Sodium monofluoroacetate (SMFA, Compound 1080): A literature review. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 21, p. 411-416, 1979.

FACCIN, T. C.; RIET-CORREA, F.; RODRIGUES, F. S.; SANTOS, A. C.; MELO, G. K. A.; SILVA, J. A.; FERREIRA, R.; ITAVO, C. C. B. F.; LEMOS, R. A. A. Poisoning by *Brachiaria brizantha* in flocks of naïve and experienced sheep. **Toxicon**, v. 82, p. 1-8, 2014.

FERREIRA, E. V.; BOABAID, F. M.; ARRUDA, L. P.; LEMOS, R. A. A.; SOUZA, M. A.; NAKAZATO, L.; COLODEL, E. M. Intoxicação por *Stryphnodendron fissuratum* (Mimosoideae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 11, p. 951-957, 2009.

FOSS, G. L. The toxicology and pharmacology of methyl fluoroacetate (MFA) in animals, with some notes on experimental therapy. **British Journal of Pharmacology**, v. 3, p. 118-127, 1948.

GORNIK, S. L.; SPINOSA, H. S. Interação entre plantas e herbívoros características da intoxicação por *Palicourea marcgravii*. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP**, v. 14, p. 175-180, 1990.

GREGG, K.; HAMDORF, B.; HENDERSON, K.; KOPECNY, J.; WONG, C. Genetically modified ruminal bacteria protect sheep from fluoroacetate poisoning. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 9, p. 3496-3498, 1998.

GRIBBLE, G. W. Fluoroacetate Toxicity. **Journal of Chemical Education**, v. 50, p. 460-462, 1973.

HELAYEL, M. A.; FRANÇA, T. N.; SEIXAS, J. N.; NOGUEIRA, V. A.; CALDAS, S. A.; PEIXOTO, P. V. Morte súbita em bovinos causada pela ingestão de *Pseudocalymma elegans* (Bignoniaceae) no município de Rio Bonito, RJ. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 7, p. 498-508, 2009.

HELAYEL, M. A.; CALDAS, S. A.; PEIXOTO, T. C.; FRANÇA, T. N.; TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; NOGUEIRA, V. A.; PEIXOTO, P. V. O antagonismo com acetamida em experimentos com ovinos, caprinos e coelhos indica monfluoroacetato como princípio tóxico de *Pseudocalymma elegans* Bignoniaceae. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 10, p. 867-874, 2011.

HUMPHREYS, D. J. *Veterinary Toxicology*. 3rd ed. Bailliere Tindall, London. 356p., 1988.

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

KARAM, F. S. C.; SOARES, M. P.; RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. C. *Senecio* na região sul do Rio Grande do Sul. Epidemiologia, sinais clínicos e patologia. In: I Simpósio Latino Americano de Plantas tóxicas, Salvador BA. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, p. 31-32, 2004.

KELLERMAN, T. S.; COETZER, J. A. W.; NAUDÉ, T. W.; BOTHA, C. J. **Plant Poisonings and Mycotoxicoses of Livestock in Southern Africa**. 2th. Oxford University Press, p. 146-151, 2007.

KREBS, H. C.; KEMMERLING, W.; HABERMEHL, G. Qualitative and quantitative determination of fluoroacético acid in *Arrabidaea bilabiata* and *Palicourea marcgravii* by F-NMR spectroscopy. **Toxicon**, v. 32, p. 909-913, 1994.

LEE, S. T.; DOOK, D.; RIET-CORREA, F.; PFISTER, J. A.; ANDERSON, W. R.; LIMA, F. G.; GARDNER, D. Detection of monofluoroacetate in *Palecourea* and *Amorimia* species. **Toxicon**, v. 60, p. 791-796, 2012.

LEMOS, R. A. A.; LEAL, C. R. B. Doenças de impacto econômico em bovinos de corte: perguntas e respostas. Campo Grande: Ed. UFMS, 450p., 2008.

LEMOS, R. A. A.; GUIMARÃES, E. B.; CARVALHO, N. M.; NOGUEIRA, A. P. A.; SANTOS, B. S.; SOUZA, R. I. C.; CARDINAL, S. G.; KASSAB, H. O. Plant Poisonings in Mato Grosso do Sul. In: **8th International Symposium on Poisonous Plants**, Paraíba, Brasil. Anais... p.68-72, 2009.

LEMOS, R. A. A.; GUIMARÃES, E. B.; CARVALHO, N. M.; NOGUEIRA, A. P. A.; SANTOS, B. S.; SOUZA, R. I. C.; CARDINAL, S. G.; KASSAB, H. O. Plant poisonings in Mato Grosso do Sul, p.68-72, 2011. In: RIET-CORREA, F.; PFISTER, J.; SCHILD, A.L.; WIERENGA, T. (Eds), **Poisoning by Plants, Mycotoxins, and Related Toxins**. CAB International, Wallingford, UK, 2011.

MARAIS, J. S. C. Monofluoroacetic acid, the toxic principle of "gifblaar" *Dichapetalum cymosum* (Hokk) Engl. **Onderstepoort Journal of Veterinary Science and Animal Industry**, v. 20, n. 1, p. 67-73, 1944.

NIETO, O. Z. **Fichas técnicas de plaguicidas a proibir o restringir incluídos en el acuerdo Nº 9 de La XVI Reunión del Sector Salud de Centroamérica y República Dominicana** (RESSCAD), Costa Rica: Organização Mundial da Saúde, 2001. 255p.

NOGUEIRA, V. A.; FRANÇA, T. N.; PEIXOTO, T. C.; CALDAS, S. A.; ARMIÉN, A. G.; PEIXOTO, P. V. Intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em bovinos: aspectos clínicos e patológicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 7, p. 533-540, 2010.

OLIVEIRA, M. M. Chromatographic isolation of monofluoroacético acid from *Palicourea marcovii*, St. Hill. **Experientia**, v. 19, p. 586, 1963.

OLIVEIRA, C. M. C.; BARBOSA, J. D.; MACEDO, R. S. C.; BRITO, M. F.; PEIXOTO, P. V.; TOKARNIA, C. H. Estudo comparativo da toxidez de *Palicourea juruana* (Rubiaceae) para búfalos e bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n. 1, p. 27-30, 2004.

OLIVEIRA, M. D.; RIET-CORREA, F.; CARVALHO, F. K. L.; SILVA, G. B.; PEREIRA, W. S.; MEDEIROS, R. M. T. Indução de resistência à intoxicação por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae) mediante administração de doses sucessivas não tóxicas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, n. 33, v. 6, p. 731-734, 2013.

PADMANABHA, J.; GREGG, K.; MCSWEENEY, C.S.; PRIDEAUX, C.; FORD M. Protection of cattle from fluoroacetate poisoning by genetically modified ruminal bacteria. **Animal Production in Australia**, v. 25, p. 293, 2000. Disponível em: http://www.publish.csiro.au/?act=view_file&file_id=SA0401138.pdf. Acesso em: 16 jun. 2014.

PATTISON F. L. **Toxic aliphatic fluorine compounds**. London: Elsevier Publishing, 1959. 227p.

PAVARINI, S. P.; SOARES, M. P.; BANDARRA, P. M.; GOMES, D. C.; BANDINELLI, M. B.; CRUZ, C. E. F.; DRIEMEIER D. Mortes súbitas em bovinos causadas por *Amorimia exotropica* (Malpighiaceae) no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 4, p. 291-296, 2011.

PAVARINI, S.P.; BANDINELLI, M. B.; JUFFO, G. D.; SOUZA, S. O.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C.E.F. Decreased expression of cardiac troponin C is associated with cardiac lesions in *Amorimia exotropica* poisoned cattle. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 10, p. 1005-1008, 2012.

PEACOCK, E. A. **Sodium monofluoroacetate (compound 1080)**. U.S. Bureau of Sport Fisheries and Wildlife, Division of Predator and Rodent Control, 1964. 26 p.

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

PEIXOTO, T. C.; NOGUEIRA, V. A.; COELHO, C. D.; VEIGA, C. C. P.; PEIXOTO, P. V.; BRITO, M. F. Avaliações clínico-patológicas e laboratoriais da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 12, p. 1021-1030, 2010.

PETERS, R. A. Lethal synthesis. Proceedings of the Royal Society of London. Series B, **Biological Sciences**, v. 139, n. 895, p.143-170, 1952.

PURISCO, E.; LEMOS, R. A. A. **Intoxicação por *Mascagnia pubiflora***. In: LEMOS, R. A. A. Principais Enfermidades de Bovinos de Corte do Mato Grosso do Sul: Reconhecimento e Diagnóstico. Campo Grande: Departamento de Medicina Veterinária – Núcleo de Ciências Veterinárias - UFMS, p. 341-343, 1998.

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

RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. Intoxicações por plantas no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a Saúde Pública. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, n. 1, p. 38-42, 2001.

RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. C. **Intoxicação por plantas e micotoxinas**. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. Doenças de Ruminantes e Eqüídeos. 3ed. Volume 2. Santa Maria: Pallotti.,p.114-122, 2007.

RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. T.; PFISTER, J.; SCHILD, A. L.; DANTAS, A. F. M. **Poisonings by plants, mycotoxins and related substances in Brazilian livestock**. Campina Grande, PB: Editora da Universidade Federal de Campina Grande, 2009.

RIET-CORREA, F.; CARVALHO, K. S.; DANTAS, A. F. M.; MEDEIROS, R. M. T. Spontaneous acute poisoning by *Crotalaria retusa* in sheep and biological control of this plant with sheep. **Toxicon**, v. 58, p. 606-609, 2011.

RISSI, D. R.; RECH, R. R.; PIEREZAN, F.; GABRIEL, A. L.; TROST, M. E.; BRUM, J. S.; KOMMERS, G. C.; BARROS, C. S. L. Intoxicações por plantas e micotoxinas associadas a plantas em bovinos no Rio Grande do Sul: 461 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, p. 261-268, 2007.

SANT'ANA, F. J. F.; PERIN, J. N.; BILEGO, U. O.; RABELO, R. E.; VULCANI, V. A. S.; DE PAULA, E. M. N. 2012. Intoxicação espontânea por *Pterodon emarginatus* (*Fabaceae*) em bovinos no Estado de Goiás. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 6, p. 485-489, 2012.

SANTOS, C. E. P.; PESCADOR, C. A.; UBIALI, D. G.; COLODEL, E. M.; SOUZA, M. A.; SILVA, J. A.; CANOLA, J. C.; MARQUES, L. C. Intoxicação natural por *Solanum glaucophyllum* (*Solanaceae*) em búfalos no Pantanal Mato-grossense. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 12, p. 1053-1058, 2011.

SATURNINO, K. C.; MARIANI, T. M.; BARBOSA-FERREIRA, M.; BRUM, K. B.; FERNANDES, C. E. S.; LEMOS, R. A. A. Intoxicação experimental por *Brachiaria decumbens* em ovinos confinados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 3, p. 195-202, 2010.

SCHULTZ, R. A.; COETZER, J. A.; KELLERMAN, T. S.; NAUDÉ, T. W. Observations on the clinical, cardiac and histopathological effects of fluoracetate in sheep. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 49, n. 4, p. 237-245, 1982.

SCHUSTER, J. L. **Poisonous plants management problems and control measures on U.S. rangelands**, p. 23-34. In: KEELER, R.; VAN KAMPEN, K.R.; JAMES, L.F. (ed.), *Effects of Poisonous Plants on Livestock*. Academic Press, New York. 600p., 1978.

SOARES, M. P.; PAVARINI, S. P.; ADRIEN, M. L.; QUEVEDO, P. S.; SCHILD, A. L.; PEIXOTO, P. V.; CRUZ, C. E. F.; DRIEMEIER, D. *Amorimia exotropa* poisoning as a presumptive cause of myocardial fibrosis in cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 23, n. 6, p. 1223-1229, 2011.

SUZUKI, K. Poisoning by organofluorines and organochlorines. **Asian Medical Journal**, v. 42, p. 558-562, 1999.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. Intoxicação por *Mascagnia pubiflora* em bovinos no Estado do Mato Grosso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 8, p. 61-68, 1973.

TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; SILVA, M. F. **Plantas tóxicas da Amazônia: bovinos e outros herbívoros**. Manaus: INPA, 95 p., 1979.

TOKARNIA, C. H.; BRITO M. F.; BARBOSA, J. D.; PEIXOTO, P. V.; DOBEREINER, J. **Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de produção**. 2 ed. Rio de Janeiro: Helianthus. 586p., 2012.

THRUSFIELD, M. **Epidemiologia Veterinária**. 2.ed.São Paulo: Roca, 2004.

TWIGG, L. E.; KING, D. R. The impact of fluoroacetate-bearing vegetation on native Australian fauna: a review. **Oikos**, v. 61, n. 3, p. 412-430, 1991.

TWIGG, L. E.; REI, D. R.; BOWEN, L. H.; WRIGHT, G. R.; EASON, C. T. Fluoroacetate content of some species of the toxic Australian plant genus, *Gastrolobium*, and its environmental persistence. **Natural Toxins**, v. 4, p. 122-127, 1996.

TWIGG, L. E.; KING, D. R.; BOWEN, L. H.; WRIGHT, G. R.; EASON, C. T. Fluoroacetate found in *Nemcia spathulata*. **Australian Journal of Botany**, v. 44, p. 411-412, 1996b.

VICKERY, B.; VICKERY, M. L. Toxicity for livestock of organofluorine compounds present in *Dichapetalum* plant species. **Veterinary Bulletin**, v. 43, n. 10, p. 537-542, 1973.

WALTON, M. T. Rancher use of livestock protection collars in Texas. In: VERTEBRATE PEST CONFERENCE, 14., 1990. Davis. **Proceedings...** Davis: University of California, 1990. p. 277- 280, 1990.

WARD, J. C.; SPENCER, D. A. Notes on the pharmacology of sodium fluoroacetate compound 1080. **Journal of the American Pharmacists Association**, v. 36, p. 59, 1947. WHITTEN, J. H. **Poisounous plants problems in Australia**, p.7-10. In: KEELER, R.; VAN KAMPEN, K. R.; JAMES, L. F. (ed.), **Effects of Poisonous Plants on Livestock**. Academic Press, New York. 600p., 1978.

7 ARTIGO 1

Administração repetida de doses não tóxicas de monofluoroacetato de sódio não protege contra a intoxicação por este composto em ovinos

Ariany C. Santos, Franklin Riet-Correa, Rubiane F. Heckler, Stephanie C. Lima,
Mariana L. Silva, Renato Rezende, Nilton M. Carvalho e Ricardo A.A. Lemos

(Artigo aceito para publicação na revista Pesquisa Veterinária Brasileira)

Administração repetida de doses não tóxicas de monofluoroacetato de sódio não protege contra a intoxicação por este composto em ovinos¹

Ariany C. Santos², Franklin Riet-Correa³, Rubiane F. Heckler², Stephanie C. Lima⁴, Mariana L. Silva⁴, Renato Rezende⁵, Nilton M. Carvalho⁶ e Ricardo A.A. Lemos^{6*}

ABSTRACT.- Santos A.C., Riet-Correa F., Heckler R.F., Lima S.C., Silva M.L., Rezende R., Carvalho N.M. & Lemos R.A.A. 2014. **[Repeated administration of non-toxic doses of sodium monofluoroacetate does not protect against poisoning by this compound in sheep]** Administração repetida de doses não tóxicas de monofluoroacetato de sódio não protege contra a intoxicação por este composto em ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira 00(0):00-00.* Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Av. Senador Filinto Müller 2443, Campo Grande, MS 79074-460, Brazil. E-mail: lap.famez@ufms.br

With the objective to assess whether repeated non-toxic doses of sodium monofluoroacetate (MFA) induce resistance to poisoning by this compound, 18 sheep were randomly divided into two experimental groups of nine animals each. Sheep from Group 1 ingested non-lethal increasing doses of MFA for six periods: 0.05mg/kg for 5 days; 0.08mg/kg for 4 days; 0.08mg/kg for 4 days; 0.1mg/kg for 3 days; 0.1mg/kg for 3 days and 0.25mg/kg for 3 days. Between the first and second period of administration and between the second and third period the animals did not receive MFA for 10 consecutive days, between the third and fourth period and during the remaining periods of administration the sheep were left 15 days without ingesting MFA. Group 2 was not adapted to the ingestion of MFA and received a single dose of 1mg/kg of MFA at the same time that Group 1 was challenged. After challenge, seven sheep of Group 1 showed clinical signs of poisoning and one sheep recovered. In Group 2 all animals showed clinical symptoms of poisoning by MFA, however two sheep recovered. The mortality rate was 66.6% in Group 1 and 77.7% for Group 2. These results suggest that repeated administration of non-toxic doses of MFA does not protect against acute poisoning by this compound; therefore other alternatives of prophylaxis for poisoning by plants containing MFA should be searched, mainly the use of intraruminal bacteria that hydrolyze MFA.

INDEX TERMS.- Sodium Monofluoroacetate, plant poisoning, *Palicourea* spp., *Amorimia* spp., *Tanaecium bilabiatum*, inducing resistance, sheep.

RESUMO.- Com o objetivo de avaliar se repetidas doses não tóxicas de monofluoroacetato de sódio (MFA) induzem resistência à intoxicação por essa substância, 18 ovinos foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais de nove animais cada. Os ovinos do Grupo 1 ingeriram doses crescentes não letais de MFA por seis períodos: 0,05 mg/Kg por 5 dias; 0,08 mg/Kg por 4 dias; 0,08 mg/Kg por 4 dias; 0,1 mg/Kg por 3 dias; 0,1 mg/Kg por 3 dias e 0,25 mg/Kg por 3 dias. Entre o primeiro e o segundo período de administração e entre o segundo e o terceiro período os animais não receberam o MFA por 10 dias consecutivos; entre o terceiro e o quarto período e dentre os demais períodos de administração, os ovinos permaneceram 15 dias sem ingerir o MFA. Quinze dias após o último período de administração os ovinos foram desafiados com a dose única de 1 mg/Kg de MFA. O Grupo 2 não foi adaptado a ingestão de MFA, estes ovinos receberam dose única de 1 mg/Kg de MFA no mesmo período em que o G1 foi desafiado. No desafio sete ovinos do Grupo 1 apresentaram sinais clínicos da intoxicação e um ovino se recuperou. No Grupo 2 todos os animais manifestaram quadro clínico da intoxicação por MFA, no entanto, dois ovinos se recuperaram. Os coeficientes de mortalidade foram de 66,6% para o Grupo 1 e de 77,7% para o Grupo 2. Os resultados deste trabalho sugerem que a administração repetida de doses não tóxicas de MFA não

¹Recebido em 21 de maio de 2014.

Aceito para publicação em

² Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Av. Senador Filinto Müller 2443, Campo Grande, MS 79074-460, Brasil.

³ Laboratório de Anatomia Patológica, Hospital Veterinário, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Santa Cecília, Patos, PB 58700-000, Brasil.

⁴ Residência Profissional em Medicina Veterinária, FAMEZ/UFMS, Campo Grande, MS.

⁵ Bolsista de Iniciação Científica PIBIC-CNPq, FAMEZ/UFMS, Campo Grande, MS.

⁶ FAMEZ/UFMS, Campo Grande, MS. *Autor para correspondência: lap.famez@ufms.br

protege contra a intoxicação aguda por esta substância, portanto, outras alternativas para a profilaxia da intoxicação por plantas que contem MFA deverão ser pesquisadas, principalmente a utilização intraruminal de bactérias que hidrolisam MFA.

TERMOS DE INDEXAÇÃO.- Monofluoroacetato de sódio, intoxicação por plantas, *Palicourea* spp., *Amorimia* spp., *Tanaecium bilabiatum*, indução de resistência, ovinos.

INTRODUÇÃO

O monofluoroacetato de sódio (MFA) é uma substância extremamente tóxica para muitas espécies animais (Omara & Sisodia 1990) e já foi identificado em diversas plantas na África do Sul (Marais 1944, Vickery et al. 1973, Nwude et al. 1977) e na Austrália (McEwan 1964, Evesit 1974, Baron et al. 1987). A toxicidade do MFA ocorre, exclusivamente, pela ação do fluorocitrato, um metabólito tóxico formado no organismo por meio da denominada “síntese letal”. O fluorocitrato bloqueia competitivamente a aconitase (Krebs et al. 1994) e impede a conversão do citrato em isocitrato, resultando no acúmulo de grandes quantidades de citrato nos tecidos. Com isso, há diminuição da produção de ATP e os processos metabólicos dependentes de energia são bloqueados (Peters 1952). Descreve-se que em ruminantes a morte sobrevenha pelo efeito intenso sobre o coração (Schultz et al. 1982, Jubb et al. 2007).

No Brasil, o MFA foi isolado em *Palicourea marcgravii* (Oliveira 1963, Cook et al. 2014), *Palicourea aeneofusca* (Lee et al. 2012, Cook et al. 2014), *Palicourea amapaensis*, *Palicourea grandiflora*, *Palicourea aff. juruana*, *Palicourea longiflora*, *Palicourea aff. longiflora*, *Palicourea macarthurorum*, *Palicourea nigricans* e *Palicourea vacillans* (Cook et al. 2014), *Amorimia rigida* (Cunha et al. 2012, Lee et al. 2012), *Amorimia septentrionalis* e *Amorimia pubiflora* (Lee et al. 2012), e *Tanaecium bilabiatum* (*Arrabidaea bilabiata*) (Krebs et al. 1994), plantas conhecidas por causarem insuficiência cardíaca aguda em ruminantes são responsáveis por cerca de 500.000 mortes de bovinos por ano (Tokarnia et al. 2012). Em bovinos, descrevem-se as seguintes doses tóxicas para algumas dessas plantas: 0,5g/kg – 2,0g/kg para *P. marcgravii* (Barbosa et al. 2003), 0,75g/kg para *P. aeneofusca* (Tokarnia et al. 1983), 5,0g/kg – 20,0g/kg para *A. pubiflora* (Tokarnia et al. 1973), 5g/kg – 10g/kg para *A. exotropicalis* e 0,65g/kg – 2,5g/kg para *A. aff. rigida* (Tokarnia et al. 1985). Para ovinos, experimentalmente, relatam-se as doses tóxicas para as plantas subsequentes: *P. marcgravii* 0,5g/kg – 1,0g/kg (Tokarnia et al. 1986), *A. pubiflora* 1,5g/kg – 20g/kg (Becker et al. 2013) e *A. septentrionalis* 5,0g/kg – 20g/kg (Vasconcelos et al. 2008).

Na Austrália, a possibilidade de prevenir intoxicações por MFA em ruminantes através da inoculação ruminal de bactérias geneticamente modificadas, contendo um gene que codifica uma fluoroacetato dehalogenase tem sido investigada (Gregg et al. 1994, Gregg et al. 1998). No Brasil, estudos para implantar medidas de controle e profilaxia efetivas para as intoxicações por plantas que contenham MFA encontram-se em desenvolvimento pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para o Controle das Intoxicações por Plantas (INCTCIP). Em trabalhos realizados por este grupo de pesquisa foi demonstrado que a administração diária e contínua de doses não tóxicas de *A. septentrionalis* (Duarte et al. 2013) e *P. aeneofusca* (Oliveira et al. 2013) administradas em períodos alternados, o que permite a detoxificação do MFA, induz resistência contra intoxicações por essas plantas. Descreve-se, também, que esta resistência pode ser transmitida de um animal resistente para um animal suscetível mediante a transfaunação de conteúdo ruminal (Duarte et al. 2013). Esses resultados somados aos estudos realizados por Camboim et al. (2012a,b) sugerem algumas possibilidades a serem investigadas para o controle das intoxicações por plantas que contenham MFA: 1) administração repetida, por períodos alternados, de doses não tóxicas da planta; 2) administração de MFA em doses não tóxicas que permita a proliferação de bactérias que tenham atividade de dehalogenases; e 3) administração de outro substrato, não tóxico, que estimule a proliferação de bactérias com atividade de dehalogenases. Até o momento, não há estudos que avaliem capacidade de se induzir resistência à intoxicação utilizando o MFA, uma substância de alta toxicidade.

O presente trabalho tem como objetivo avaliar se é possível induzir resistência à intoxicação por MFA em ovinos mediante a administração de doses crescentes não letais de MFA por períodos alternados, desafiando-os com dose tóxica única do princípio tóxico.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do experimento, foram utilizados 18 ovinos divididos aleatoriamente em dois grupos. Os ovinos eram provenientes de áreas sem a ocorrência da intoxicação por plantas do gênero *Amorimia*, sem raça definida, sendo 16 machos não castrados e duas fêmeas, com cinco a sete meses de idade e pesos entre 20-40 kg, previamente vermifugados (Nitroxinil 34%). Os ovinos foram mantidos em baias individuais com área de 2,0 m², alimentados com ração comercial para a espécie (equivalente a 1% do peso vivo), feno de *Cynodon dactylon* (Tifton), sal mineral e água à vontade. Cada ovino recebeu um

número de identificação (Ovinos 1-18) e foi submetido ao exame clínico completo antes da administração do MFA.

O Grupo 1 (G1) foi constituído por nove ovinos machos, não castrados, que receberam doses crescentes não letais de MFA por seis períodos: 0,05 mg/Kg por 5 dias; 0,08 mg/Kg por 4 dias; 0,08 mg/Kg por 4 dias; 0,1 mg/Kg por 3 dias; 0,1 mg/Kg por 3 dias e 0,25 mg/Kg por 3 dias. Entre o primeiro e o segundo período de administração e entre o segundo e o terceiro período os animais não receberam o MFA por 10 dias consecutivos; entre o terceiro e o quarto período e dentre os demais períodos de administração, os ovinos permaneceram 15 dias sem ingerir o MFA. Durante cada período de fornecimento do MFA foram realizados exames clínicos que consistiam em verificação das frequências cardíaca e respiratória, da temperatura retal, da motilidade ruminal e do comportamento do animal. Quinze dias após o último período de administração os ovinos foram desafiados com a dose única de 1 mg/Kg de MFA. As doses administradas foram estabelecidas com base naquelas descritas por Humphreys (1988) e Peixoto et al. (2010); a metodologia foi adaptada de Duarte et al. (2013) e Oliveira et al. (2013). O Grupo 2 (G2), considerado como grupo controle positivo, foi composto por sete ovinos machos não castrados e duas fêmeas. Estes ovinos receberam dose única de 1 mg/Kg de MFA no mesmo período em que o G1 foi desafiado.

Durante o período de desafio (dose única de 1 mg/Kg de MFA), os ovinos foram observados em intervalos de 2 horas, no entanto, com o início dos sinais clínicos o intervalo de observação foi reduzido para cada 30 minutos. Não houve movimentação dos animais em nenhum momento após a administração da dose tóxica de MFA.

Para o experimento utilizou-se o MFA (Sigma-Aldrich Co⁷), com grau de pureza >95%, diluído no momento da administração com 10 mL de água destilada. Os ovinos que morreram foram necropsiados imediatamente após a morte, com a coleta de todos os órgãos, fixados em formol tamponado a 10%. Após a fixação, os fragmentos foram clivados, desidratados em álcool etílico absoluto, diafanizados em xilol, incluídos em parafina e cortados em micróto mo à espessura de 4µ, e os cortes corados pela hematoxilina-eosina (HE) para exame histopatológico. Para o cálculo de mortalidade foram avaliados os grupos G1 e G2 separadamente, considerando a relação entre a frequência absoluta de óbitos e o número de animais sob risco.

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMS e protocolado sob o nº 537/2013.

RESULTADOS

No Grupo 1, durante os cinco primeiros períodos de indução de resistência nenhum animal apresentou sinais clínicos de intoxicação por MFA. No último período (0,25 mg/Kg de MFA por 3 dias), os Ovinos 1 e 3 apresentaram apatia, hiporexia a anorexia, leves tremores nos membros posteriores, cabeça e pescoço, micção frequente, ataxia, espasticidade, relutância em andar e decúbito esternal a maior parte do tempo. Os sinais clínicos foram observados cerca de 14 horas e 7 horas, respectivamente, após a terceira dose de 0,25 mg/Kg de MFA. Os Ovinos 1 e 3 mostraram melhora do quadro clínico com recuperação 58 horas e 66 horas, respectivamente, após a terceira administração do MFA. Estes animais foram mantidos no experimento para o período de desafio.

No período de desafio com dose única de 1,0 mg/Kg de MFA, para o Grupo 1, o tempo decorrido entre a administração e a manifestação dos primeiros sinais clínicos variou de 5h a 24h. A evolução da intoxicação foi de 1h10min a 39h50min para os Ovinos 1, 2, 3 e 4. Em dois animais (Ovinos 6 e 9) não foram observados sinais clínicos da intoxicação por MFA, no entanto, foram encontrados mortos 14h e 12h58min, respectivamente, após a administração do princípio tóxico. Apenas um animal (Ovino 5) demonstrou recuperação do quadro clínico com cerca de 72h após os primeiros sinais da intoxicação. Os Ovinos 7 e 8 não manifestaram sinais clínicos da intoxicação por MFA, conforme o Quadro 1.

Nos sete ovinos do Grupo 1 em que foram observados sinais clínicos, verificaram-se apatia, anorexia, ataxia, tremores musculares em membros, cabeça e pescoço, depressão, relutância em andar e dificuldade quando iam deitar-se, dispneia e grunhidos expiratórios, hiperexcitação e decúbito esternal a maior parte do tempo. Na fase final, em geral, os animais caíam em decúbito lateral com movimentos de pedalagem, apresentavam respiração ofegante, opistótono, nistagmo, esticavam os membros e morriam (Quadro 1).

No Grupo 2, o intervalo entre a administração do MFA e a manifestação dos sinais clínicos ocorreu entre 8h a 24h, com evolução clínica de 39min a 15h15min. Dois animais (Ovinos 10 e 15) apresentaram recuperação do quadro clínico 82h após demonstrarem sinais de intoxicação. Os sinais clínicos consistiam em ataxia, tremores musculares em membros, cabeça e pescoço, micção frequente, hiporexia, relutância

⁷Sigma-Aldrich, 3050 Spruce Street, St Louis, MO 63103, USA <<http://www.sigma-aldrich.com>>

em andar, decúbito esternal a maior parte do tempo, quedas em decúbito lateral com movimentos de pedalagem, opistótono e nistagmo (Quadro 1).

As alterações macroscópicas foram semelhantes para o Grupo 1 e o Grupo 2, caracterizadas por aurículas, veias cavas caudal e cranial, jugulares, ázigos, costo cervical, ilíacas e pulmonares leve a acentuadamente ingurgitadas, discreto a moderado hidropericárdio e raras petéquias no pericárdio. Os pulmões apresentavam-se não colapsados (“armados”), lisos, brilhantes, pesados, com áreas irregulares avermelhadas e discretamente congestos. Havia discreta quantidade de espuma esbranquiçada na traquéia próximo a bifurcação dos brônquios. O fígado estava acastanhado intercalado com áreas irregulares avermelhadas. Os rins apresentavam cortical pálida ao corte em sete animais (Ovinos 1, 4, 9, 11, 12, 13, 16) e nos demais, cortical e medular difusamente avermelhadas. No miocárdio do Ovino 3 havia áreas pálidas.

Os principais achados histopatológicos foram observados no rim, fígado e coração conforme Quadro 2. No rim, de todos os ovinos avaliados, havia discreta a moderada deposição de material amorfo eosinofílico na luz de túbulos contorcidos e no espaço capsular. Apenas oito ovinos (Ovinos 2, 3, 4, 6, 12, 13, 17 e 18) apresentaram discreta a moderada tumefação e vacuolização (degeneração hidrópico-vacuolar) dos túbulos contorcido distais associadas à picnose nuclear. Havia ainda, discreta a moderada tumefação e vacuolização dos túbulos contorcidos proximais (Ovinos 1, 2, 3, 9, 17 e 18), múltiplos focos discretos de infiltrado linfoplasmocitário intersticial (Ovinos 1 e 16) e discreta a moderada congestão. No fígado, em geral, observaram-se discreta a acentuada tumefação e vacuolização difusa dos hepatócitos e discreta necrose individual aleatória de hepatócitos. Em um animal (Ovino 18) havia cirrose hepática associada a cristais birrefringentes na luz de ductos biliares e macrófagos espumosos, no entanto, este ovino não apresentava sinais clínicos de intoxicação por *Brachiaria* spp. No coração de nove ovinos (Ovinos 1, 3, 4, 6, 9, 12, 13, 14 e 16) havia discreta vacuolização intracitoplasmática das fibras musculares e discreta retração celular, aumento da eosinofilia e picnose nuclear em fibras musculares individuais aleatórias. No cerebelo e em fragmentos de córtex do Ovino 18, observaram-se discretas formações vacuolares de diferentes tamanhos na substância branca próximo a junção com a substância cinzenta. Nos demais órgãos não foram encontradas alterações significativas.

Os coeficientes de mortalidade foram de 66,6% para o Grupo 1 e de 77,7% para o Grupo 2.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A metodologia utilizada não foi eficiente para induzir a resistência à intoxicação por MFA em ovinos. Ainda que, no Grupo 1 três ovinos tenham sobrevivido, dos quais, os Ovinos 7 e 8 não apresentaram nenhuma manifestação clínica de intoxicação e o Ovino 5 recuperou-se em 72 horas após os primeiros sinais da intoxicação, o coeficiente de mortalidade foi de 66,6%, enquanto para o Grupo 2 esse coeficiente foi de 77,7%. Em estudos anteriores para indução de resistência a intoxicação por *A. septentrionalis* (Duarte et al. 2013) e *P. aeneofusca* (Oliveira et al. 2013), com a administração de doses não letais crescentes dessas plantas, nenhum caprino morreu durante ou após o período de desafio. Em ambos os experimentos, todos os animais do grupo controle adoeceram e houve 33,3% de mortalidade nesse grupo controle, no qual os caprinos não tinham sido adaptados ao consumo da planta.

Embora neste estudo a presença de bactérias que degradem o MFA não tenha sido avaliada, este é o principal mecanismo proposto para a ocorrência da resistência a intoxicação por plantas que tem o MFA como princípio tóxico (Duarte et al. 2013). Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que existem ovinos naturalmente resistentes a intoxicação corroborando com as observações de relatos anteriores em que animais criados em áreas livres da planta podem conter bactérias que degradam o MFA em seu rúmen (Camboim et al. 2012b). Porém, a administração de doses não letais crescentes de MFA não foram capazes de provocar o crescimento da população destas bactérias ao ponto de induzir a resistência ao desafio com 1,0 mg/Kg de MFA. Estudos realizados na Austrália demonstram que a inoculação no rúmen de uma estirpe geneticamente modificada de *Butyrivibrio fibrisolvens* com um gene que codifica uma fluoroacetato dehalogenase, proveniente de uma espécie de *Moraxella*, foi eficiente em prevenir a intoxicação por MFA em ovinos (Gregg et al. 1998).

A dose tóxica de MFA empregada durante o período de desafio corresponderia a 16,6g/kg de *A. pubiflora*, se consideramos a concentração de 0,006% de MFA encontrada em amostras de *A. pubiflora* mantidas no Herbário da Universidade de Michigan (Lee et al. 2012). Desta forma, a dose tóxica utilizada estaria de acordo com a variação de toxidez da planta observada para a espécie bovina (0,5g/kg – 20,0g/kg) e ovina (1,5g/kg – 20g/kg) (Tokarnia et al. 1973, Becker et al. 2013). Ressalta-se que no estado de Mato Grosso do Sul a *A. pubiflora* é uma das plantas tóxicas mais importantes, responsável por surtos de morte súbita em bovinos (Lemos et al. 2011).

Graus variáveis de degeneração hidrópico-vacuolar ocorreram em 61,5% dos ovinos deste estudo, diferente do observado por Peixoto et al. (2010) em que todos os ovinos intoxicados com MFA

apresentaram lesão renal. Esta não é uma alteração específica, mas pode ser um achado diagnóstico em animais intoxicados por plantas que contêm esse princípio tóxico (Oliveira et al. 2004, Helayel et al. 2009, Nogueira et al. 2010, Tokarnia et al. 2012). As lesões hepáticas de tumefação e vacuolização foram observadas em todos os ovinos, com intensidade discreta a moderada e distribuição difusa. Alterações semelhantes foram descritas em um ovino intoxicado por MFA, no entanto, a lesão se restringia, predominantemente, a regiões periportais (Peixoto et al. 2010). No coração de oito ovinos havia discreta necrose de coagulação de fibras musculares individuais, caracterizada por retração celular, aumento da eosinofilia do citoplasma com perda das estriações e núcleos picnóticos, além de vacúolos intracitoplasmáticos observados em algumas células. Esta alteração já foi descrita em bovinos (Pavarini et al. 2012) e caprinos (Oliveira et al. 2013) intoxicados por plantas que contêm o MFA. Em bovinos intoxicados por *A. exotropica* descreve-se também áreas multifocais e coalescentes de fibrose cardíaca (Soares et al. 2012).

Em trabalhos anteriores foi comprovado que a administração de doses não tóxicas de plantas que contem MFA aumentam a resistência contra a intoxicação por essas plantas e foi elaborada a hipótese de que doses não tóxicas de MFA poderiam também aumentar a resistência a intoxicação por essa substância (Duarte et al. 2013, Oliveira et al. 2013). Os resultados deste trabalho sugerem que a administração repetida de doses não tóxicas de MFA não protege contra a intoxicação aguda por esta substância, portanto, outras alternativas para o controle das intoxicações por plantas que contêm MFA deverão ser pesquisadas, principalmente a utilização de bactérias que hidrolisam MFA.

Agradecimentos.- À Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT/CAPES nº 011/2013 – Doutorado em MS) pela concessão de bolsa; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq Nº 14/2013 – Projeto Universal Proc. 480550/2013-1) e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para o Controle das Intoxicações por Plantas (INCTCIP) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Barbosa J.D., Oliveira C.M.C., Tokarnia C.H. & Riet-Correa F. 2003. Comparação da sensibilidade de bovinos e búfalos à intoxicação por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae). *Pesq. Vet. Bras.* 23(4):167-172.
- Baron M.L., Bothroyd C.M., Rogers G.I., Staffa A. & Rae I.D. 1987. Detection and measurement of fluoroacetate in plant extracts by F-NMR. *Phytochem.* 26(8):2293-2295.
- Becker M., Caldeira F.H.B., Carneiro F.M., Oliveira L.P., Tokarnia C.H., Riet-Correa F., Lee S.T. & Colodel E.M. 2013. Importância da intoxicação por *Amorimia pubiflora* (Malpighiaceae) em bovinos em Mato Grosso: reprodução experimental da intoxicação em ovinos e bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 33(9):1049-1056.
- Camboim E.K.A., Tadra-Sfeir M.Z., Souza E.M., Pedrosa F.O., Andrade P. P., McSweeney C.S., Riet-Correa F. & Melo M.A. 2012a. Defluorination of sodium fluoroacetate by bacteria from soil and plants in Brazil. *Scientific World Journal* 2012:149893.
- Camboim E.K.A., Almeida A.P., Tadra-Sfeir M.Z., Junior F.G., Andrade P.P., McSweeney C.S., Riet-Correa F. & Melo M.A. 2012b. Isolation of sodium fluoroacetate degrading bacteria from caprine rumen in Brazil. *Scientific World Journal* 2012:178254
- Cook D., Lee S.T., Taylor C.M., Bassüner B., Riet-Correa F., Pfister J.A. & Gardner D.R. 2014. Detection of toxic monofluoroacetate in *Palicourea* species. *Toxicon* 80:9-16.
- Cunha L.C., Pipole F., Carvalho L.R., Lago J.H.G. & Görniak S.L. 2012. Isolation and characterization of sodium 2-fluoroacetate from *Mascagnia rigida* using chromatography and infrared spectroscopy. *Toxicon* 60:329-332.
- Duarte A.L.L., Medeiros R.M.T., Carvalho F.K.L., Lee S.T., Cook D., Pfister J.A., Costa V.M.M. & Riet-Correa F. 2013. Induction and transfer of resistance to poisoning by *Amorimia* (*Mascagnia*) *septentrionalis* in goats. *J. Appl. Toxicol.* DOI 10.1002/jat.2860.
- Everist S.L. 1974. *Poisonous Plants of Australia*. Sidney: Angus and Robertson Publishers. 684 p.
- Gregg K., Cooper C.L., Schafer D.J., Sharpe H., Beard C.E., Allen G. & Xu J. 1994. Detoxification of the plant toxin fluoroacetate by a genetically modified rumen bacterium. *Nature* 12(13):1361-1365.
- Gregg K., Hamdorf B., Henderson K., Kopečný J. & Wong C. 1998. Genetically modified ruminal bacteria protect sheep from fluoroacetate poisoning. *Appl. Environ. Microbiol.* 64(9):3496-3498.
- Helayel M.A., França T.N., Seixas J.N., Nogueira V.A., Caldas S.A. & Peixoto P.V. 2009. Morte súbita em bovinos causada pela ingestão de *Pseudocalymma elegans* (Bignoniaceae) no município de Rio Bonito, RJ. *Pesq. Vet. Bras.* 29(7):498-508.
- Humphreys D.J. 1988. *Veterinary Toxicology*. 3rd ed. Bailliere Tindall, London. 356p.

- Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. 2007. Pathology of Domestic Animals, 5. ed, Toronto: Saunders elsevier, Vol. 3, 737p.
- Krebs H.C., Kemmerling W. & Habermehl G. 1994. Qualitative and quantitative determination of fluoroacetic acid in *Arrabidaea bilabiata* and *Palicourea marcgravii* by F-19-NMR Spectroscopy. *Toxicon* 32(6):909-913.
- Lee S.T., Cook D., Riet-Correa F., Pfister J.A., Anderson W.R., Lima F.G. & Gardner D. 2012. Detection of monofluoroacetate in *Palicourea* and *Amorimia* species. *Toxicon* 60:791-796.
- Lemos R.A.A., Guimarães E.B., Carvalho N.M., Nogueira A.P.A., Santos B.S., Souza R.I.C., Cardinal S.G. & Kassab H.O. 2011. Plant poisonings in Mato Grosso do Sul, p.68-72. In: Riet-Correa F., Pfister J., Schild A.L. & Wierenga T. (Eds), Poisoning by Plants, Mycotoxins, and Related Toxins. CAB International, Wallingford, UK.
- Marais J.S.C. 1944. Monofluoroacetic acid, the toxic principle of "gifblaar" *Dichapetalum cymosum* (Hokk) Engl. Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Ind. 20(1):67-73.
- McEwan T. 1964. Isolation and identification of the principle of *Gastrolobium grandiflorum*. *Queensl. J. Agric. Anim. Sci.* 21(2):1-14.
- Nogueira V.A., França T.N., Peixoto T.C., Caldas S.A., Armien A.G. & Peixoto P.V. 2010. Intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em bovinos: aspectos clínicos e patológicos. *Pesq. Vet. Bras.* 30(7):533-540.
- Nwude N., Parsons L.E. & Adaudi A.O. 1977. Acute toxicity of the leaves and extracts of *Dichapetalum barberi* (Engl.) in mice, rabbits and goats. *Toxicol.* 7:23-29.
- Oliveira M.M. 1963. Chromatographic isolation of monofluoroacetic acid from *Palicourea marcgravii* St. Hil. *Experientia* 19(11):586-587.
- Oliveira C.M.C., Barbosa J.D., Macedo R.S.C., Brito M.F., Peixoto P.V. & Tokarnia C.H. 2004. Estudo comparativo da toxidez de *Palicourea juruana* (Rubiaceae) para búfalos e bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 24(1):27-30.
- Oliveira M.D., Riet-Correa F., Carvalho F.K.L., Silva G.B., Pereira W.S. & Medeiros R. M.T. 2013. Indução de resistência à intoxicação por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae) mediante administração de doses sucessivas não tóxicas. *Pesq. Vet. Bras.* 33(6):731-734.
- Omara F. & Sisodia C.S. 1990. Evaluation of potential antidotes for sodium fluoroacetate in mice. *Vet. Hum. Toxicol.* 32(5):427-431.
- Pavarini S.P., Bandinelli M.B., Juffo G.D., Souza S.O., Driemeier D. & Cruz C.E.F. 2012. Decreased expression of cardiac troponin C is associated with cardiac lesions in *Amorimia exotropa* poisoned cattle. *Pesq. Vet. Bras.* 32(10):1005-1008.
- Peixoto T.C., Nogueira V.A., Coelho C.D., Veiga C.C.P., Peixoto P.V. & Brito M.F. 2010. Avaliações clínico-patológicas e laboratoriais da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 30(12):1021-1030.
- Peters R.A. 1952. Lethal synthesis. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 139(895):143-170.
- Schultz R.A., Coetzer J.A., Kellerman T.S. & Naudé T.W. 1982. Observations on the clinical, cardiac and histopathological effects of fluoracetate in sheep. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 49(4):237-245.
- Soares M.P., Pavarini S.P., Adrien M.L., Quevedo P.S., Schild A.L., Peixoto P.V., Cruz C.E.F. & Driemeier D. 2011. *Amorimia exotropa* poisoning as a presumptive cause of myocardial fibrosis in cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.* 23(6):1223-1229.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1973. Intoxicação por *Mascagnia pubiflora* em bovinos no Estado do Mato Grosso. *Pesq. Agropec. Bras.* 8:61-68.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J., Couceiro J.E.M. & Silva A.C.C. 1983. Intoxicação por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae), a causa de "mortes súbitas" em bovinos na Zona-da-Mata de Pernambuco. *Pesq. Vet. Bras.* 3(3):75-79.
- Tokarnia C.H., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 1985. Intoxicação experimental por *Mascagnia aff. rigida* (Malpighiaceae) em bovinos no Norte do Espírito Santo. *Pesq. Vet. Bras.* 5(3):77-91.
- Tokarnia C.H., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 1986. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em ovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 6(4):121-131.
- Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. Plantas tóxicas do Brasil. Editora Helianthus, Rio de Janeiro. 586p.
- Vasconcelos J.S., Riet-Correa F., Dantas A.F.M., Medeiros R.M.T., Galiza G.J.N., Oliveira D.M. & Pessoa A.F.A. 2008. Intoxicação por *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) em ovinos e caprinos. *Pesq. Vet. Bras.* 28(10):521-526.
- Vickery B., Vickery M.L. & Ashu J.T. 1973. Analysis of plants for fluoroacetic acid. *Phytochem.* 1:145-147.

Quadro 1. Principais dados sobre o período de desafio, evolução, sinais clínicos e desfecho da indução de resistência à ingestão de monofluoroacetato de sódio (MFA) em ovinos

	Identificação	Sexo	Início dos sinais clínicos após desafio com MFA	Evolução da intoxicação	Sinais clínicos	Desfecho
GRUPO 1	Ovino 1	Macho	8h e 59min	4h	Discreta ataxia, tremores musculares em membros, cabeça e pescoço, hiperexcitação, decúbito lateral, opistótono, nistagmo e movimentos de pedalagem	Morte
	Ovino 2	Macho	23h e 15min	1h e 10min	Ataxia, tremores musculares em membros, cabeça e pescoço, hiperexcitação, decúbito lateral, opistótono, nistagmo e movimentos de pedalagem	Morte
	Ovino 3	Macho	14h	39h e 50min	Apatia, anorexia, ataxia, tremores musculares em membros, cabeça e pescoço, decúbito esternal e lateral, opistótono, nistagmo e movimentos de pedalagem	Morte
	Ovino 4	Macho	5h	18h e 15min	Apatia, anorexia, depressão, ataxia, tremores musculares em membros, cabeça e pescoço, relutância em andar, dispneia, grunhidos expiratórios, decúbito lateral e movimentos de pedalagem, opistótono, nistagmo, discreta quantidade de espuma esbranquiçada em narinas e boca	Morte
	Ovino 5	Macho	24h	72h	Apatia, anorexia, depressão, discreta ataxia, relutância em andar, decúbito esternal a maior parte do tempo	Recuperação
	Ovino 6	Macho	—	—	Não foram observados sinais clínicos	Morte ^a
	Ovino 7	Macho	—	—	Ausência de sinais clínicos	— ^b
	Ovino 8	Macho	—	—	Ausência de sinais clínicos	— ^b
	Ovino 9	Macho	—	—	Não foram observados sinais clínicos	Morte ^c
GRUPO 2	Ovino 10	Macho	14h	82h	Ataxia, tremores musculares em membros, cabeça e pescoço, relutância em andar, micção frequente e hiporexia	Recuperação
	Ovino 11	Macho	8 h	39min	Ataxia, tremores musculares em membros, cabeça e pescoço, relutância em andar, quedas em decúbito lateral, opistótono, nistagmo e movimentos de pedalagem	Morte
	Ovino 12	Macho	14h	1h	Ataxia, tremores musculares em membros, cabeça e pescoço, relutância em andar, quedas em decúbito lateral, opistótono, nistagmo e movimentos de pedalagem	Morte

Ovino 13	Macho	8h 40min	7 h	Ataxia, tremores musculares em membros, cabeça e pescoço, relutância em andar, permaneceu em decúbito esternal seguido por decúbito lateral, opistótono, nistagmo e movimentos de pedalagem	Morte
Ovino 14	Macho	8 h	10min	Ataxia, tremores musculares em membros, cabeça e pescoço, queda em decúbito lateral, opistótono, nistagmo e movimentos de pedalagem	Morte
Ovino 15	Macho	14h	82h	Ataxia, tremores musculares em membros, cabeça e pescoço, relutância em andar, micção frequente, decúbito esternal na maior parte do tempo e hiporexia	Recuperação
Ovino 16	Macho	8 h	39min	Ataxia, tremores musculares em membros, cabeça e pescoço, relutância em andar, quedas em decúbito lateral, opistótono, nistagmo e movimentos de pedalagem	Morte
Ovino 17	Fêmea	13h	11h e 25min	Discreta ataxia, tremores musculares em membros, cabeça e pescoço, dispneia, quedas em decúbito lateral, opistótono, nistagmo e movimentos de pedalagem	Morte
Ovino 18	Fêmea	24h	15h e 15min	Ataxia, tremores musculares em membros, cabeça e pescoço, decúbito esternal e lateral, opistótono, nistagmo e movimentos de pedalagem	Morte

^aEncontrado morto 14h após a administração do MFA

^bNão apresentaram sinais clínicos de intoxicação por MFA

^cEncontrado morto 12h e 58min após a administração do MFA

Quadro 2. Principais alterações histopatológicas e intensidade das lesões observadas nos rins, fígado e coração dos ovinos intoxicados por monofluoroacetato de sódio (MFA) durante o período desafio, da indução de resistência à ingestão de MFA em ovinos

Identificação	Rim (TCD ^a)		Rim (TCP ^b)		Fígado		Coração		
	Tumefação e vacuolização	Picnose nuclear	Tumefação e vacuolização	Picnose nuclear	Tumefação e vacuolização	Necrose individual aleatória	Vacuolização intracitoplasmática	Retração celular e aumento da eosinofilia	
GRUPO 1	Ovino 1	-	-	+	-	(++)	+	+	+
	Ovino 2	+	+	++	-	+++	+	-	-
	Ovino 3	+	+	+	-	++	+	+	+
	Ovino 4	+	+	-	-	++	+	+	+
	Ovino 6	+	+	-	-	+++	+	+	+
	Ovino 9	-	-	+	-	++	+	+	+
GRUPO 2	Ovino 11	-	-	-	-	++	+	-	-
	Ovino 12	++	++	-	-	(++)	+	+	+
	Ovino 13	+	+	-	-	++	+	+	-
	Ovino 14	-	-	-	-	++	+	+	+
	Ovino 16	-	-	-	-	+	+	+	+
	Ovino 17	++	++	+	-	++	+	-	-
	Ovino 18	++	++	+	-	+	+	-	-

^aTCD - Túbulo Contorcido Distal; ^bTCP - Túbulo Contorcido Proximal; Lesões: +++ acentuada; (++) moderada a acentuada; ++ moderada; + discreta; - ausente

8 ARTIGO 2**Doenças tóxicas de bovinos em Mato Grosso do Sul**

Roosevelt I. C. Souza; Ariany C. dos Santos; Nickolly L. K. de Sá Ribas; Edson M. Colodel; Paula V. Leal; Rayane C. Pupin; Nilton M. Carvalho; Ricardo A. A. Lemos

(Artigo aceito para publicação na revista Semina: Ciências Agrárias)

Doenças tóxicas de bovinos em Mato Grosso do Sul

Toxic diseases of bovines from of Mato Grosso do Sul

Roosevelt I. C. Souza^{1*}; Ariany C. dos Santos¹; Nickolly L. K. de Sá Ribas²; Edson M. Colodel³; Paula V. Leal⁴; Rayane C. Pupin⁴; Nilton M. Carvalho⁵; Ricardo A. A. Lemos⁶

Resumo

Foi realizado um estudo retrospectivo de um período de 12 anos, entre 2000 e 2012, nos arquivos do Laboratório de Anatomia Patológica (LAP), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Para esse estudo utilizaram-se 2.359 laudos de necropsias de bovinos que tinham conclusão diagnóstica. Em 151 deles (6,40%) as causas de morte foram atribuídas às doenças tóxicas, agrupadas em intoxicações por plantas e outras doenças tóxicas. As intoxicações por plantas foram responsáveis por 88,9% dos surtos diagnosticados. Em ordem decrescente de frequência, as intoxicações pelas seguintes plantas foram descritas: *Brachiaria* spp. (27,88%), *Vernonia rubricaulis* (25%), *Amorimia pubiflora* (11,54%), *Senna occidentalis* e *S. obtusifolia* (8,65%), *Enterolobium contortisiliquum* e polpa cítrica (3,85% cada), *Stylosanthes* spp. (2,88%), *Tetrapteryx multiglandulosa* (1,92%), *Manihot* spp., *Simarouba versicolor*, *Crotalaria* spp., *Pterodon emarginatus* e *Solanum malacoxylon* (0,96% cada). Neste grupo também foram agrupadas as nefropatias tóxicas, responsáveis por 9,62% dos surtos. Dentre as outras doenças tóxicas diagnosticadas, são descritas as intoxicações por chumbo (30,77%), ureia (23,08%), cloreto de sódio, abamectina e acidentes ofídicos (15,38% cada). Neste estudo, 5,6% dos diagnósticos conclusivos realizados em bovinos de Mato Grosso do Sul (MS) durante o período estudado foram atribuídos à ingestão de plantas tóxicas, o que evidencia a importância deste diagnóstico e suas perdas econômicas. Os surtos de intoxicação por *Brachiaria* spp. foram mais frequentes, mas sua importância como planta tóxica é pequena quando comparada à extensão

¹ Discente de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, FAMEZ, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, UFMS, Campo Grande, MS. E-mail: carvalhomv26@gmail.com

² Discente de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, FAMEZ, UFMS, Campo Grande, MS.

³ Prof. Adjunto do Dept^o de Clínica Médica Veterinária, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso, UFMT, Cuiabá, MT.

⁴ Bolsista de Iniciação Científica PIBIC-CNPq, FAMEZ, UFMS, Campo Grande, MS.

⁵ Técnico de Nível Superior, Médico Veterinário, FAMEZ, UFMS, Campo Grande, MS.

⁶ Prof. Adjunto do curso de Medicina Veterinária, FAMEZ, UFMS, Campo Grande, MS.

*Autor para correspondência

territorial em que está plantada. Entretanto, os casos subnotificados podem modificar a importância da *Brachiaria* spp. como planta tóxica.

Palavras-chave: Doenças de bovinos, intoxicações por plantas, doenças tóxicas, estudo retrospectivo, epidemiologia, patologia, Mato Grosso do Sul.

Abstract

A retrospective study has been conducted for a period of 12 years, between 2000 and 2012, on files archived at the Laboratório de Anatomia Patológica (LAP), at the Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ) at Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). For this study, 2.359 necropsy reports of cattle with conclusive diagnostic were used. On 151 of them (6.40%) the causes of death were attributed to toxic diseases that were grouped under the tags: plant poisonings and other poisoning diseases. Plant poisonings were responsible for 88.9% of the diagnosed outbreaks. In decreasing order of frequency, poisoning from the following plants was described as: *Brachiaria* spp. (27.88%), *Vernonia rubricaulis* (25%), *Amorimia pubiflora* (11.54%), *Senna occidentalis* and *S. obtusifolia* (8.65%), *Enterolobium contortisiliquum* and citric pulp (3.85% each), *Stylosanthes* spp. (2.88%), *Tetrapteryx multiglandulosa* (1.92%), *Manihot* spp., *Simarouba versicolor*, *Crotalaria* spp., *Pterodon emarginatus* and *Solanum malacoxylon* (0.96% each). In this group, toxic nephropathy was also included, accounting for 9.62% of the outbreaks. Among other toxic diseases that have been diagnosed, lead poisoning (30.77%), urea (23.08%), sodium chloride, abamectin, and snakebites (15.38% each) are described. In this study, 5.6% of conclusive diagnoses performed on cattle from Mato Grosso do Sul (MS) during the period studied was attributed to ingestion of toxic plants, which highlights the importance of this diagnostic and their economic losses. Outbreaks of *Brachiaria* spp. were more frequent, but its importance as a toxic plant is small when compared to the extension of the fields on which it is planted. However, the underreported cases can change the importance of *Brachiaria* spp. as a toxic plant.

Key words: Bovine diseases, plants poisonings, toxic diseases, retrospective study, epidemiology, pathology, Mato Grosso do Sul.

Introdução

As doenças tóxicas que acometem bovinos são responsáveis por importantes perdas econômicas em Mato Grosso do Sul (MS). Embora a importância das intoxicações por planta possa variar de região para região, muitas plantas tóxicas causam prejuízos consideráveis em várias regiões em virtude da existência dessas espécies difundidas no Brasil (TOKARNIA et al., 2012). Desta maneira, a maioria das intoxicações por plantas no MS ocorre em outras regiões brasileiras. Até o momento tem sido descritos trabalhos referindo-se a relatos de surtos de

intoxicações por *Vernonia rubricaulis* (BRUM et al., 2002), *Tetrapteryx multiglandulosa* (CARVALHO et al., 2006), *Brachiaria* spp. (SOUZA et al., 2010), *Stryphnodendron fissuratum* (FERREIRA et al., 2009), *Simarouba versicolor* (CARVALHO et al., 2013), *Senna occidentalis* e *Senna obtusifolia* (FERREIRA-NETO et al., 2004, SANTOS et al., 2011) e outros agentes como intoxicação por polpa cítrica (SPLENGLER et al., 2006) e intoxicação por chumbo (LEMOS et al., 2004) em MS. No entanto, não há estudos retrospectivos comparativos sobre a prevalência de doenças tóxicas em bovinos no Estado.

Estudos retrospectivos baseados na coleta de dados em arquivos são cada vez mais importantes na Patologia Veterinária, pois é através destes levantamentos que se pode definir a prevalência de uma doença em uma região, agrupar os dados epidemiológicos, clínicos e patológicos, além de possibilitar a utilização de técnicas complementares de diagnóstico para caracterizar a etiologia das lesões anteriormente observadas e de causa indeterminada, permitindo modificar diagnósticos incorretos ou conceitos errôneos (FIGHERA, 2008).

O objetivo desse trabalho foi descrever a frequência e os aspectos epidemiológicos e patológicos das doenças tóxicas que afetam o rebanho bovino Sul Mato-grossense, por meio de estudo retrospectivo dos diagnósticos realizados no Laboratório de Anatomia Patológica (LAP), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), no período de 2000 a 2012.

Material e Métodos

Realizou-se um estudo sobre a frequência das doenças tóxicas nos arquivos do LAP/FAMEZ, utilizando-se os laudos de necropsias e exames histopatológicos da espécie bovina, emitidos entre os meses de janeiro de 2000 e dezembro de 2012. Os dados foram obtidos em necropsias realizadas por médicos veterinários do LAP ou por profissionais autônomos que enviaram material para o exame histopatológico. Os casos experimentais, os materiais provenientes de outros estados e os diagnósticos inconclusivos foram excluídos desse estudo.

Foram consideradas doenças tóxicas aquelas causadas pela intoxicação por plantas, medicamentos, resíduo industrial de fruto cítrico, metais pesados, sais e acidentes ofídicos. Foram classificados como nefropatias tóxicas os casos em que havia fortes evidências de consumo de plantas tóxicas e outras causas de nefropatia foram descartadas. Desta forma, as doenças tóxicas dos bovinos foram agrupadas em: intoxicações por plantas (ação tóxica ou mecânica) e outras doenças tóxicas. A intoxicação por polpa cítrica foi categorizada dentro das intoxicações por plantas de acordo com Tokarnia et al. (2012).

Por meio da revisão dos laudos, o levantamento foi distribuído por número de casos e número de surtos, considerando como surto quando um ou mais materiais de uma mesma propriedade foram remetidos ao LAP/FAMEZ, de acordo com Thrusfield (2004). Dos laudos de

necropsia foram obtidos dados epidemiológicos (idade, procedência, época de ocorrência, morbidade e letalidade), sinais clínicos e achados patológicos. Os diagnósticos definitivos de intoxicações por plantas foram baseados na epidemiologia, sinais clínicos e achados patológicos associados à presença da planta na pastagem com evidência de ingestão da mesma pelos bovinos afetados. Para os casos de intoxicação por chumbo foi realizada a dosagem de chumbo em fragmentos de fígado e rim.

Os coeficientes de morbidade e letalidade foram calculados com base na população sob risco, sendo esta considerada como o número de bovinos no lote problema.

Resultados e Discussão

De janeiro de 2000 a dezembro de 2012, o LAP/FAMEZ tem 8535 laudos patológicos arquivados relativos às diversas espécies animais de interesse veterinário. Desses, 5.456 (64%) referem-se à espécie bovina, porém foram excluídos 3.097 (56,76%) diagnósticos por se tratarem de materiais oriundos de outros estados, de casos experimentais ou de diagnósticos inconclusivos. Dos 2.359 (43,24%) diagnósticos conclusivos, as doenças tóxicas corresponderam a 151 (6,4%) diagnósticos.

Os dados descritos para cada doença são pontuais, ou seja, foram coletados no momento da requisição dos exames, podendo não corresponder ao total de bovinos afetados em um surto. Nestes surtos o número de bovinos afetados foi, na maioria das vezes, maior que o número de necropsias realizadas. Na Tabela 1 está sumarizada a relação completa das doenças tóxicas (intoxicações por plantas e outras doenças tóxicas), distribuídas em número de casos e surtos, com a respectiva porcentagem, a idade dos bovinos afetados e os coeficientes de morbidade e letalidade.

1 Intoxicações por plantas

As intoxicações por plantas constituem importantes causas de mortalidade em bovinos em Mato Grosso do Sul, representando aproximadamente 5,6% dos diagnósticos conclusivos realizados durante o período estudado. O percentual obtido neste estudo é menor do que o observado por outros laboratórios de diagnóstico no Brasil. No Rio Grande do Sul, casos de intoxicações por plantas representam, aproximadamente, 7% a 16% dos diagnósticos de morte em bovinos (RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001; PEDROSO et al., 2007; RISSI et al., 2007). Na Paraíba, esse índice atinge 7,4% (ASSIS et al., 2010) e, em Santa Catarina, aproximadamente 14% (RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001). Os fatores que podem ter contribuído para isso estão relacionados ao elevado número de materiais encaminhados com diagnósticos inconclusivos, devido principalmente ao envio de históricos clínicos e dados epidemiológicos incompletos ou ausentes, ou a subnotificação dos casos por produtores e médicos veterinários autônomos. Assim, é provável que o número de casos de intoxicação por

plantas no estado seja ainda maior. Considerando que a população de bovinos de Mato Grosso do Sul, estimada em 21 milhões de cabeças, é superior a dos estados acima mencionados (BRASIL, 2012), o total de bovinos acometidos é maior que o observado nestas regiões. Considerando que no Brasil a estimativa de mortalidade anual de bovinos é de aproximadamente 5% (CORRÊA et al., 2000), a perda de bovinos em Mato Grosso do Sul relacionada às plantas tóxicas pode ser estimada em 60 mil cabeças por ano.

As intoxicações por plantas tóxicas diagnosticadas no estado foram por *Brachiaria* spp., *Vernonia rubricaulis*, *Amorimia pubiflora*, *Senna occidentalis* e *S. obtusifolia*, *Enterolobium contortisiliquum*, polpa cítrica, *Stylosanthes* spp., *Tetrapteryx multiglandulosa*, *Manihot* spp., *Simarouba versicolor*, *Crotalaria* spp., *Pterodon emarginatus* e *Solanum malacoxylon* (Figura 1). É importante destacar o surto de intoxicação por *Simarouba versicolor*, planta que em levantamentos anteriores (LEMOS et al., 2009) não foi relatada como tóxica para bovinos. Este dado evidencia que, para estimativa adequada da ocorrência das intoxicações por plantas, os levantamentos em séries históricas devem abranger no mínimo dez anos, como os realizados por outros autores (RISSI et al., 2007; PEDROSO et al., 2007), nos quais algumas intoxicações apresentaram alta frequência com ocorrência constante, enquanto outras foram diagnosticadas esporadicamente.

Dentre os casos de intoxicações por plantas em bovinos diagnosticados no LAP/FAMEZ, 27,88% (29 surtos), foram atribuídos à intoxicação por *Brachiaria* spp. Parte dos surtos de intoxicação por *Brachiaria* spp. foram descritos pela equipe do LAP/FAMEZ em levantamento anterior (SOUZA et al., 2010), no qual os autores relatam maior ocorrência de casos em bovinos que pastoreiam na *B. decumbens* que *B. brizantha* e que a intoxicação ocorre, principalmente, em bovinos jovens nas diferentes épocas do ano. Estas características mantiveram-se presentes nos demais surtos diagnosticados no LAP/FAMEZ durante os anos seguintes. Esta forrageira, que constitui grande parte das pastagens no Brasil (TOKARNIA et al., 2012) e que nesse estudo afetou bovinos de todas as idades, em todos os meses no ano, com maior prevalência nos meses de julho a agosto, deve ser considerada como uma das principais causas de intoxicação no estado. É provável que esta incidência seja ainda maior, já que vários surtos são subnotificados por produtores ou veterinários, sem o envio de material para exame, ou com a recuperação dos bovinos afetados. A grande variação nos coeficientes de morbidade e letalidade pode estar relacionada à variação da toxicidade entre as diferentes espécies de forrageira, da concentração de saponinas na planta e diferenças da susceptibilidade e resistência entre bovinos de diferentes idades e raças (SOUZA et al., 2010). As plantas do gênero *Brachiaria* são responsáveis pela fotossensibilização hepatógena, que é induzida por saponinas litogênicas presentes na planta (CRUZ et al., 2000, 2001; BRUM et al., 2007; CASTRO et al., 2009), e também por casos de emagrecimento progressivo (RIET-CORREA et al., 2002; SOUZA et al., 2010).

Vernonia rubricaulis foi incriminada como causa de mortalidade de bovinos em 26 surtos diagnosticados no LAP/FAMEZ, o que correspondeu a 25% das intoxicações por plantas tóxicas diagnosticadas durante o período estudado. Em todos os surtos desta intoxicação, a ocorrência esteve relacionada a queimadas, passagem de roçadeira na pastagem ou “trilho” (equipamento utilizado para o controle de plantas invasoras, constituído por três barras de trilho de estrada de ferro, puxado por um trator). Estes fatores foram importantes na epidemiologia da intoxicação, uma vez que a planta em brotação é consideravelmente mais tóxica (BRUM et al., 2002). Necrose hepatocelular massiva associada à acentuada congestão e hemorragias centrolobulares, foi o principal achado morfológico em bovinos nesse estudo, semelhantes aos observados por outros autores em mortalidades descritas em bovinos de Mato Grosso do Sul (TOKARNIA; DÖBEREINER, 1982). Destaca-se que apenas um surto foi detalhado anteriormente por Brum et al. (2002) e que outros 25 ocorreram posteriormente durante o período de dez anos. No período estudado a intoxicação pela planta foi diagnosticada em todos os anos e na maioria dos surtos os coeficientes de morbidade foram em torno de 0,25-100% e letalidade próxima a 100%.

Amorimia pubiflora foi diagnosticada em 12 surtos (11,54%) e nos meses de fevereiro, julho, agosto e novembro não houve casos diagnosticados. Os proprietários e responsáveis pelos animais relataram que as mortes ocorreram após a movimentação dos bovinos no mangueiro ou durante o embarque, esta condição é descrita em outros casos espontâneos de intoxicação por *A. pubiflora* em bovinos (BECKER et al., 2013). Os surtos ocorreram independentes da disponibilidade de forragem, no entanto, relata-se frequentemente que as mortes se concentrem principalmente no final do período da seca e início do período chuvoso, o que coincide com a fase de brotação, período vegetativo de maior toxidez da planta (TOKARNIA et al., 2012). Em trabalho realizado por Pavarini et al. (2011) no Rio Grande do Sul, nos surtos de intoxicação por *Amorimia exotropica* (Malpighiaceae), planta que também cursa com morte súbita, os casos ocorreram durante todo o ano, com maior concentração nos meses de maio e agosto, o que os autores relacionam à carência de alimento nesta época do ano no Sul do Brasil.

Não se determinou a causa de nefropatias tóxicas em dez ocorrências registradas no LAP/FAMEZ. Em dois destes surtos, as lesões histológicas foram compatíveis com intoxicação por oxalato, nas quais foi observada nefrose tubular associada a cristais de oxalato, que são caracterizados por feixes irradiantes birrefringentes (MCGAVIN; ZACARY, 2009). Sendo que um desses, os bovinos pastoreavam *Brachiaria humidicola*, que tem sido descrita no Brasil como uma das principais plantas que contêm oxalato (TOKARNIA et al., 2012), e no outro que ocorreu em bovinos confinados, *Amaranthus* spp. era processado junto ao milho para produção de silagem fornecida aos bovinos, porém, não se reproduziu experimentalmente as lesões renais em experimentos realizados no LAP/FAMEZ com uso de silagem coletada *in loco*. Deve-se considerar que várias tentativas de reprodução da intoxicação com plantas do gênero

Amaranthus em locais de surtos também apresentaram resultados negativos (PEIXOTO et al., 2003), ou reproduziram apenas lesões histológicas discretas sem manifestações clínicas (FERREIRA et al., 1991). Isto pode estar relacionado à perda da ação nefrotóxica quando a planta é dessecada ou estocada, como descrita por outros autores em experimentos realizados com *Amaranthus* spp. (OSWEILLER; BUCK; BICKNELL, 1969; FERREIRA et al., 1991), entretanto; na literatura consultada não há menção se isso também poderia ocorrer no processo de silagem.

Plantas do gênero *Senna* (*S. occidentalis* e *S. obtusifolia*) foram responsáveis por 8,65% das intoxicações diagnosticadas, sendo 18 casos distribuídos em nove surtos. Os surtos ocorreram em pastejo extensivo e rotacionado em áreas severamente invadidas pelas plantas. No surto ocorrido em pastoreio rotacionado, um lote de bovinos em terminação foi inicialmente colocado em uma área de milheto, no qual consumiram predominantemente a forrageira, de maneira que quando o lote seguinte entrou predominava *S. occidentalis* em abundância em fase de frutificação, que foi consumida pelos bovinos. Este surto foi descrito detalhadamente por Ferreira-Neto et al. (2004). Nos demais surtos, as áreas estavam severamente invadidas por *S. occidentalis* ou *S. obtusifolia* ou pelas duas plantas simultaneamente; embora houvesse boa disponibilidade de forragem, a oferta de pastagem não foi avaliada por critérios técnicos, como a taxa de lotação e densidade de pastagem compatíveis com a capacidade de suporte. A ocorrência de surtos em pastoreio semelhante foi descrita anteriormente em surtos no Brasil (BARROS et al., 1999; TAKEUTI et al., 2011; CARMO et al., 2011).

O coeficiente de morbidade, quando considerada apenas a população sob risco, ou seja, o lote de bovinos que foi introduzido posteriormente ao consumo de milheto pelo primeiro lote, foi de 17,6% (FERREIRA-NETO et al., 2004) o qual é consideravelmente superior aos surtos observados em pastoreio extensivo no presente estudo. O elevado coeficiente de morbidade observado no surto em pastoreio rotacionado evidencia que o aumento na taxa de lotação é um dos fatores de risco para que ocorra a intoxicação por plantas do gênero *Senna*. Em surto de intoxicação por *S. obtusifolia* em bovinos em confinamento, descrito por Queiroz et al. (2012) no noroeste do Paraná, o coeficiente de morbidade foi de 10%. Variações nos coeficientes de morbidade, entre 4,2% a 55,2%, foram observadas em estudo de 16 surtos de intoxicação por *S. occidentalis* em bovinos em pastoreio no Rio Grande do Sul (CARMO et al., 2011). Essas intoxicações ocorreram entre os meses de janeiro e julho, com maior número de casos entre janeiro e março, diferentemente do observado em estudo realizado com 16 surtos de intoxicação no Rio Grande do Sul, onde os casos ocorreram durante o outono e inverno, com 50% dos surtos em maio (CARMO et al., 2011). Isso poderia estar relacionado a pastos mais pobres com pouca disponibilidade de pastagem naquele estado (HENSON et al., 1965; PIERCE; O'HARA, 1967). O diagnóstico de intoxicação por *Senna* spp. registrado no LAP/FAMEZ elevou-se nos últimos dois anos devido ao aumento destas invasoras na pastagem. Acredita-se que, no

presente estudo, o elevado índice pluviométrico que ocorreu na época dos surtos favoreceu o crescimento das plantas do gênero *Senna* que se sobressaíram às forrageiras. Ressalta-se que a maior invasão ocorreu em pastos de *Brachiaria brizantha* devido às características vegetativas desta gramínea, que possui hábito de crescimento cespitoso (NUNES et al., 1985), deixando áreas descobertas ao redor, o que favoreceu a germinação das sementes de plantas invasoras, incluindo as do gênero *Senna* que estavam dormentes no solo. Outro fator que pode estar relacionado ao aumento do número dos casos de intoxicação por *Senna* spp. foi a vigilância ativa do LAP nas propriedades para o estudo das miopatias tóxicas em bovinos induzidas pelas plantas. Esta condição também é descrita em outros levantamentos (RISSI et al., 2007; SOUTO et al., 2006a,b) .

A intoxicação por *Enterolobium contortisiliquum* representou 3,85% (quatro surtos) das mortes diagnosticadas dentre as intoxicações por plantas. Os surtos ocorreram entre os meses de julho e setembro, época que coincide com a maturação e queda das favas. Em dois surtos, havia histórico de aborto e fotossensibilização associados à ingestão das favas, achados também descritos por Grecco et al. (2002) e Mendonça et al. (2009). Apesar de *E. contortisiliquum* ser considerado como causador de fotossensibilização e aborto, a planta também já foi mencionada como causadora de distúrbios digestórios agudos (RIET-CORREA et al., 2006). O diagnóstico dos surtos descritos no presente estudo foi baseado no histórico, nos sinais clínicos e nas lesões macro e microscópicas (GRECCO et al., 2002; MENDONÇA et al., 2009).

Intoxicação por polpa cítrica ocorreu em bovinos confinados (quatro surtos), que recebiam aproximadamente 3,7 kg do resíduo industrial de frutos cítricos. A ingestão de quantidades da polpa cítrica, iguais ou superiores a 3 kg diários, por períodos de dois meses ou mais, é associada à intoxicação, sobretudo, em vacas leiteiras (TOKARNIA et al., 2012). Os achados de necropsia se caracterizaram por hemorragias nas serosas, mucosas e tecido subcutâneo nos casos agudos da intoxicação e, à histopatologia, observou-se inflamação granulomatosa com células gigantes no fígado e rim, achado semelhante ao descrito por outros autores (JABOUR et al., 2005; VIEIRA et al., 2007). Detalhes de um dos surtos descritos neste levantamento podem ser obtidos em trabalho realizado por Splengler et al. (2006).

Houve três surtos de obstruções por fitobensoares de *Stylosanthes* spp. em bovinos mantidos em pastagem de *B. brizantha* consorciada a estilosantes. Nos três surtos, não foram encontradas lesões histológicas significativas, porém como os materiais foram encaminhados por veterinários autônomos é provável o não encaminhamento do fragmento do intestino correspondente ao local da lesão. Portanto, o diagnóstico foi baseado no envio dos fitobensoares pelos veterinários, no histórico de falha na consorciação entre o *Stylosanthes* spp. e a *B. brizantha* e na descrição de necropsia. Segundo notas técnicas do Centro Nacional de Pesquisa em Gado de Corte (CNPGC/Embrapa), que incentivam a consorciação do Estilosantes cultivar Campo Grande®, a consorciação máxima não deve ultrapassar 40% de *Stylosanthes*

spp. em relação a outras gramíneas (EMBRAPA,2007, 2010). Nos três surtos acompanhados, foram relatadas falhas no consórcio entre a leguminosa e pastagem, nos quais a proporção atingiu 70% de estilosantes em relação a *B. brizantha*, e pode ter favorecido a formação dos fitobenzóides. Ubiali et al. (2013) descreveram, na área de obstrução, necrose da parede intestinal intensamente demarcada em relação a segmento adjacente normal, além de intenso espessamento associado a edema, congestão e hemorragia.

Intoxicações por *Tetrapteryx multiglandulosa*, *Simarouba versicolor* e *Pterodon emarginatus* corresponderam, respectivamente, a 1,92%, 0,96% e 0,96% dos surtos causados por plantas tóxicas. Esses surtos foram descritos em trabalhos realizados pelo LAP/FAMEZ (CARVALHO et al., 2006, 2013) e em parceria com a equipe do Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso (LPV-UFMT) (CRUZ et al., 2012). A intoxicação pelas folhas de *S. versicolor* em bovinos não foi descrita nos anos anteriores. Esta planta ocorre principalmente no cerrado brasileiro e na caatinga, é conhecida como “pau-paíba”, “mata-cachorro” ou “simarouba-do-Brasil” e, pode atingir três a quatro metros de altura. Neste surto a pastagem foi roçada, o que propiciou a brotação da planta, que se encontrava com cerca de um metro de altura e foi pastejada pelos bovinos. Os sinais clínicos mais comuns foram fraqueza, tremores musculares, incoordenação dos membros pélvicos, decúbito e morte. As lesões histológicas são caracterizadas por necrose do tecido linfóide e enterite necrosante. Experimentalmente, a intoxicação já foi reproduzida em bovinos (CARVALHO et al., 2013) e ovinos (SANTOS et al., 2013).

Um surto de intoxicações por *Crotalaria* spp., *Solanum malacoxylon* e *Manihot* spp. para cada planta (0,96% dos surtos de intoxicação) foram registrados no LAP/FAMEZ. Com relação à *Crotalaria* spp., no Brasil sabe-se que, sob condições naturais, em intoxicações de animais de produção, a *Crotalaria mucronata* e *C. juncea* afetam o sistema respiratório e que a *C. retusa*, *C. specatabilis* e *C. incana* causam intoxicações que afetam principalmente o fígado (LEMOS et al., 1997; NOBRE et al., 2004; BOGHOSSIAN et al., 2007; UBIALI et al., 2011; TOKARNIA et al., 2012; QUEIROZ et al., 2013), embora o surto tenha ocorrido em condição de pastoreio, não foi possível identificar a espécie da planta envolvida. Há um surto de intoxicação por *C. mucronata* com a predominância de lesões pulmonares, registrado no LAP/FAMEZ, porém as amostras foram encaminhadas do estado de Minas Gerais (LEMOS et al., 1997). Intoxicação por *S. malacoxylon* ocorreu no município de Aquidauana, no Pantanal Sul Mato-grossense, com sinais clínicos, achados de necropsia e histopatológico semelhantes aos descritos em estudos anteriores (PARDI; SANTOS, 1947; DÖBEREINER et al., 1971; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1974). No surto de intoxicação por *Manihot* spp., os casos ocorreram em uma propriedade leiteira, onde o proprietário relatou a ingestão de “mandioca brava” pelos animais. Variedades de *Manihot* spp., conhecidas como “brava”, são mais ricas em glicosídeo cianogênico responsável pelo quadro clínico-patológico observado (TOKARNIA et

al., 2012). Os sinais clínicos do presente estudo corroboram relatos anteriores (AMORIM et al., 2004), não havendo lesões histológicas significativas (TOKARNIA et al., 2012).

Outras plantas são mencionadas por produtores e veterinários como causadoras de intoxicação, como o *Stryphnodendron fissuratum* e a *Brachiaria radicans*, entretanto, nenhum caso suspeito destas intoxicações foi confirmado pelo LAP/FAMEZ. Em relação ao *S. fissuratum*, surtos espontâneos foram descritos em Mato Grosso e a doença foi reproduzida experimentalmente com frutos colhidos em uma propriedade de Mato Grosso do Sul, na qual ocorreram mortes com quadro clínico-patológico compatível com a intoxicação, porém não foram realizados necropsias e exames histopatológicos nos casos espontâneos (FERREIRA et al., 2009).

2 Outras doenças tóxicas

De janeiro de 2000 a dezembro de 2012, aproximadamente 11,11% dos diagnósticos de doenças tóxicas realizados em bovinos foram atribuídas ao grupo outras doenças tóxicas. Dentre estas se destacam, em ordem decrescente, as intoxicações por chumbo (30,77%), ureia (23,08%), cloreto de sódio (15,38%), abamectina (15,38%) e os acidentes ofídicos (15,38%).

Intoxicação por chumbo em bovinos nesse levantamento (quatro surtos) foi causada pela inalação de vapores de chumbo da fumaça produzida por uma usina de reciclagem de baterias de automóveis, que apresentou falhas no sistema de filtragem. A intoxicação por chumbo ocorre quando bovinos ingerem acidentalmente produtos, pastagens ou aguadas contaminadas e pela inalação de vapores (RADOSTITS et al., 2007). Em todos os casos acompanhados, não foram observadas alterações macroscópicas significativas, porém outros autores já descreveram alterações como edema cerebral (TRAVERSO et al., 2004), áreas focais de malácia e cavitações do córtex telencefálico, principalmente no lobo occipital (SUMMERS; CUMMINGS; LAHUNTA, 1995). Os achados histopatológicos foram semelhantes aos descritos por Traverso et al. (2004). Além das lesões histológicas sugestivas, o diagnóstico foi confirmado pelas concentrações de chumbo no fígado e rins de duas vacas, no solo e na grama onde os bovinos adoeceram. Este surto de intoxicação por chumbo em bovinos foi relatado pela equipe do LAP/FAMEZ e colaboradores (LEMOS et al., 2004).

Nos três surtos de intoxicação por ureia registrados no LAP/FAMEZ, os bovinos foram encontrados mortos e, em um destes, foi constatada a morte dos animais cerca de 50 minutos após a administração de ureia misturada à palha de arroz e ao farelo. A evolução clínica superaguda que culmina com a morte dos bovinos em poucos minutos, é uma característica dessa intoxicação, sendo comum encontrar bovinos mortos próximos aos cochos (BARROS et al., 2006). Nestes surtos, não foi possível determinar a dose de ureia administrada aos animais, mas se sabe que doses altas (0,5g/kg PV) de ureia granulada ou extrusada administradas experimentalmente a bovinos causaram severo quadro tóxico em até 240 minutos após a

ingestão da mesma (ANTONELLI, 2003). Em todos os casos do presente estudo, não foram encontradas alterações macro e microscópicas significativas, o que é uma característica da intoxicação (BARROS et al., 2006).

Os casos de intoxicação por cloreto de sódio (dois surtos) foram provenientes de materiais de bovinos encaminhados ao LAP/FAMEZ, os quais apresentavam sintomatologia nervosa, sem histórico de evolução clínica e com lesões histológicas que se caracterizavam por meningoencefalite eosinofílica, similar aquelas descritas em casos de intoxicação por sódio em suínos e que é considerada uma alteração típica da intoxicação por sal em suínos (SUMMERS; CUMMINGS; LAHUNTA, 1995; BOOS et al., 2012). Esta alteração ocorre na fase aguda, sendo que após 24 horas os eosinófilos são gradativamente substituídos por macrófagos, o que torna difícil o diagnóstico morfológico (CARLTON; MCGAVIN, 1995). Nos surtos descritos no presente estudo, não foi possível realizar a dosagem dos níveis de sódio no líquido cefalorraquidiano, exame confirmatório que tem sido descrito em intoxicações por sal/privação de água em suínos (BOSS et al., 2012) e também em bovinos (NAKAZATO; LEMOS; RIET-CORREA, 2000). Considerando que a meningoencefalite eosinofílica nem sempre é encontrada na intoxicação por sal em bovinos (VERDES et al., 2007), este não deve ser o único critério de diagnóstico, devendo se observar o histórico (intoxicação por sal/privação de água) e a dosagem de sódio.

Os acidentes ofídicos corresponderam a 15,38% (dois surtos) das outras doenças tóxicas diagnosticadas e são sugestivos de envenenamento botrópico, pois foram caracterizados por lesões necróticas nos locais de inoculação (TOKARNIA; PEIXOTO, 2006). Há poucos relatos de casos naturais de acidentes letais por *Bothrops* em bovinos no Brasil, entretanto, experimentos foram realizados com o veneno de serpentes desse gênero em bovinos, porém com pouca ou nenhuma descrição detalhada do quadro clínico-patológico (ARAÚJO; BELLUOMINI, 1962; ARAÚJO et al., 1963; NOVAES et al., 1986).

Dois surtos de intoxicação por abamectina (15,38%), utilizada em dosagem não ajustada de acordo com o peso do animal, foram observados em bovinos no município de Corumbá, com a recuperação de alguns animais. As alterações neurológicas observadas foram compatíveis com as manifestações relatadas em intoxicações descritas em outros estados brasileiros. É provável que a intoxicação por abamectina seja frequente e que o número de casos de intoxicação iatrogênica seja subestimado, visto que os sinais clínicos podem ser leves, transitórios e muitos animais apresentam rápida recuperação (SEIXAS et al., 2006).

Conclusões

Dentre as causas tóxicas de mortalidade de bovinos em Mato Grosso do Sul, as plantas tóxicas são as mais importantes. As principais plantas causadoras de intoxicação foram *Brachiaria* spp., *Vernonia rubricaulis*, *Amorimia pubiflora*, *Senna occidentalis* e *S. obtusifolia*.

Embora as plantas do gênero *Brachiaria* sejam responsáveis pelo maior percentual de intoxicação, sua importância como planta tóxica é pequena quando se relaciona o número de surtos com o consumo e a área ocupada por esta forrageira. Entretanto, o número de casos subnotificados pode alterar a importância da *Brachiaria* spp. como planta tóxica.

Referências

- AMORIM, S. L.; MEDEIROS, R. M. T.; RIET-CORREA, F.; OLIVEIRA, A. C. P. Intoxicação experimental com plantas cianogênicas em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 24 (Supl.), p. 5-6, 2004.
- ANTONELLI, A. C. *Administração de doses padrão e alta de uréia extrusada ou granulada em bovinos: uma análise clínica-toxicológica e laboratorial*. 2003. 147 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10136/tde-25092007-134559/>>. Acesso em: 9 fev. 2013.
- ARAÚJO, P.; BELLUOMINI, H. E. Toxicidade de venenos ofídicos. I. Sensibilidade específica de animais domésticos e de laboratório. *Memórias do Instituto Butantan*, São Paulo, v.30, p. 143-156, 1960-1962.
- ARAÚJO, P.; ROSENFELD, G.; BELLUOMINI, H. E. Toxicidade de venenos ofídicos. II. Doses mortais para bovinos. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v. 30, p. 43-48, 1963.
- ASSIS, T. S.; MEDEIROS, R. M. T.; RIET-CORREA, F.; GALIZA, G. J. N.; DANTAS, A. F. M.; OLIVEIRA, M. D. Intoxicações por plantas diagnosticadas em ruminantes e equinos e estimativa das perdas econômicas na Paraíba. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 30, n. 1, p. 13-20, 2010.
- BARROS, C. S. L.; ILHA, M. R. S.; BEZERRA, J. R. O. S.; LANGOHR, I. M.; KOMMERS, G. D. Intoxicação por *Senna occidentalis* em bovinos em pastoreio (Leg. Caesalpinoideae). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 19, p. 68-70, 1999.
- BARROS, C. S. L.; DRIEMEIER, D.; DUTRA, I. S.; LEMOS, R. A. A. *Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil*. Montes Claros: Vallée, 2006.
- BECKER, M.; CALDEIRA, F. H. B.; CARNEIRO, F. M.; OLIVEIRA, L. P.; TOKARNIA, C. H.; RIET-CORREA, F.; LEE, S. T.; COLODEL, E. M. Importância da intoxicação por *Amorimia pubiflora* (Malpighiaceae) em bovinos em Mato Grosso: reprodução experimental da intoxicação em ovinos e bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 33, n. 9, p. 1049-1056, 2013.
- BOGHOSSIAN, M. R.; PEIXOTO, P. V.; BRITO, M. F.; TOKARNIA, C. H. Aspectos clínico-patológicos da intoxicação experimental pelas sementes de *Crotalaria mucronata*

- (Fabaceae) em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 27, n. 4, p. 149-156, 2007.
- BOOS, G. S.; WATANABE, T. T. N.; ALMEIDA, P. R.; OLIVEIRA, L. G. S.; PAVARINI, S. P.; ZLOTOWSKI, P.; DRIEMEIER, D. Surto de intoxicação por sal em suínos em Santa Catarina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 32, n. 4, p. 329-332, 2012.
- BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção de Pecuária Municipal, v. 39. Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2011/tabelas_pdf/tab03.pdf. Acesso em: 5 dez. 2012.
- BRUM, K. B.; HARAGUCHI, M.; LEMOS, R. A. A.; RIET-CORREA, F.; FIORAVANTE, M. C. Crystal associated cholangiopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens* containing the saponin protodioscin. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 27, p. 39-42, 2007.
- BRUM, K. B.; PURISCO, E., LEMOS, R. A. A.; RIET-CORREA, F.. Intoxicação por *Vernonia rubricaulis* em bovinos no Mato Grosso do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 22, n. 3, p. 119-128, 2002.
- CARLTON, W. W.; MCGAVIN, M. D. *Thomson's Special Veterinary Pathology*. 2. ed. London: Mosby, 1995.
- CARMO, P.M. S.; IRIGOYEN, L. F.; LUCENA, R. B.; FIGHERA, R. A.; KOMMERS, G. D.; BARROS, C.S. L. Spontaneous coffee senna poisoning in cattle: Report on 16 outbreaks. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v.31, n. 2, p. 139-46, 2011.
- CARVALHO, N. M.; ALONSO, L. A.; CUNHA, T. G.; RAVEDUTTI, J.; BARROS, C. S. L.; LEMOS, R. A. A. Intoxicação de bovinos por *Tetrapteryx multiglandulosa* (Malpighiaceae) em Mato Grosso do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 26, n. 3, p. 139-146, 2006.
- CARVALHO, N. M.; BACHA, F. B.; SANTOS, A. C.; CARVALHO, A. Q.; FACCIN, T. C.; POTT, A.; LEMOS R. A. A. Spontaneous and experimental intoxication of cattle by *Simarouba versicolor* A. St.-Hill (Simaroubaceae). *Toxicon*, Oxford, v. 64, p. 55-59, 2013.
- CASTRO, M. B.; SANTOS, J.R. H. L.; MUSTAFA, V. S.; GRACINDO, C. V.; MOSCARDINI, A. C. R.; LOUVANDINI, H.; PALUDO, G. R.; BORGES, J. R. J.; HARAGUCHI, M.; FERREIRA, M. B.; RIET-CORREA, F. *Brachiaria* spp. poisoning in sheep in Brazil: Experimental and epidemiological findings. In: International Symposium on Poisonous Plants, 8th, 2009, João Pessoa. *Anais...* Cambridge: Cabi, 2009, p.110-117.
- CORRÊA, S. E.; VIEIRA, A.; COSTA, P. F.; CEZAR, M. I. Sistema semi-intensivo de produção de carne de bovinos Nelore no Centro-Oeste do Brasil. *Embrapa Gado de Corte*, Campo Grande, MS, p. 5, 2000.

- CRUZ, C.; DRIEMEIER, D.; PIRES, V. S.; COLODEL, E. M.; TAKETA, A. T. C.; SCHENKEL, E.P. Isolation of steroidal sapogen in simplicated in experimentally induced cholangiopathy of sheep grazing *Brachiaria decumbens* in Brazil. *Veterinary Human Toxicology*, Manhattan, v. 42, p. 142-145, 2000.
- CRUZ, C.; DRIEMEIER, D.; PIRES, V.S.; SCHENKEL, E.P. Experimentally induced cholangiopathy by dosing sheep with fractionate dextracts from *Brachiaria decumbens*. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*, Columbia, v. 13, p. 170-172, 2001.
- CRUZ, R. A. S.; OLIVEIRA, L. P.; CALDEIRA, F. H. B.; MENDONÇA, F. S.; BACHA, F. B.; POTT, A.; LEMOS, R. A. A.; COLODEL, E. M.. Intoxicação espontânea e experimental por *Pterodon emarginatus* (Fabaceae Faboideae) em bovinos e experimental em ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 32, n. 11, p. 1087-1094, 2012.
- DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C. H.; COSTA, J. B. D.; CAMPOS, J. L. E.; DAYRELL, M. S. “Espichamento”, intoxicação de bovinos por *Solanum malacoxylon*, no Pantanal de Mato Grosso. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Série Veterinária, Brasília, v. 6, p. 91-117, 1971.
- EMBRAPA. Comunicado Técnico n° 105. *Cultivo e uso do estilosantes-campo-grande*. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2007. 11 p.
- EMBRAPA. Nota Técnica. *Uso correto do estilosantes em pastagens consorciadas*. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2010.
- FERREIRA, J. L. M.; RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. C. Intoxicação por *Amaranthus* spp (Amaranthaceae) em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 1, n. 3-4, p. 49-54, 1991.
- FERREIRA, E. V.; BOABAID, F. M.; ARRUDA, L. P.; LEMOS, R. A. A.; SOUZA, M. A.; NAKAZATO, L.; COLODEL, E. M. Intoxicação por *Stryphnodendron fissuratum* (Mimosoideae) em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 29, p. 951-957. 2009.
- FERREIRA-NETO, P. G.; LEMOS, R. A. A.; MORI, A. E.; GUIMARÃES, E. B. Intoxicação por *Senna occidentalis* (Leg. Caesalpinoidea) em bovinos em pastoreio rotacionado. In: 1º Simpósio Latino-Americano de Plantas Tóxicas, 2004, Salvador. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica: Colégio Brasileiro de Patologia Animal, v. 24, p. 22-23, 2004.
- FIGHERA, R. A. Causas de morte e razões para eutanásia em cães. 2008. 171 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Santa Maria, 2008.
- GRECCO, F. B.; MANTAS, A. F. M.; RIET-CORREA, F.; LEITE, C. G. D.; RAPOSO, J. B. I. Cattle intoxication from *Enterolobium contortisiliquum* pods. *Veterinary Human Toxicology*, Manhattan, v. 44, n. 3, p. 160-162, 2002.

- HENSON, J. B.; DOLLAHITE, J. W.; BRIDGES, C.H.; RAO, R.R. Myodegeneration in cattle grazing Cassia Species. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Chicago, v. 147, n. 2, p. 142-145, 1965.
- JABOUR, F. F.; OLIVEIRA, L. I.; FRANÇA, T. N.; NOGUEIRA, V. A.; BRITO, M. F. Intoxicação por polpa cítrica em bovino. In: *Congresso Brasileiro de Buiatria*, 6, 2005, Búzios. *Anais...* Búzios, 2005.
- LEMOS, R. A. A.; DUTRA, I. S.; SOUZA, G. F.; NAKAZATO, L.; BARROS, C. S. L. Intoxicação espontânea por *Crotalaria mucronata* em bovinos em Minas Gerais. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v. 64, p. 46, 1997.
- LEMOS, R. A. A.; DRIEMEIER, D.; GUIMARÃES, E. B.; DUTRA, I. S.; MORI, A. E.; BARROS, C. S. L. Lead poisoning in cattle grazing pasture contaminated by industrial waste. *Veterinary Human Toxicology*, Manhattan, v. 46, n. 6, p. 326-328, 2004.
- LEMOS, R. A. A.; GUIMARÃES, E. B.; CARVALHO, N. M.; NOGUEIRA, A. P. A.; SANTOS, B. S.; SOUZA, R. I. C.; CARDINAL, S. G.; KASSAB, H. O. Plant Poisonings in Mato Grosso do Sul. In: *8th International Symposium on Poisonous Plants*, Paraíba, Brasil. *Anais...* p. 68-72, 2009.
- MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. *Bases da patologia em veterinária*. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier/Mosby, 2009.
- MENDONÇA, F. S.; EVÊNCIO-NETO, J.; BARATELLA-EVÊNCIO, L.; DÓRIA, R. G. S.; FREITAS, S. H.; PELEGRINI, L. F.; CRUZ, R. A. S.; FERREIRA, E. V.; COLODEL, E. M. Natural and Experimental Poisoning of Cattle by *Enterolobium contortisiliquum* Pods (Fabaceae Mimosoideae) in Central-Western Brazil. *Acta Veterinaria Brno*, Brno, v. 78, p. 621-625, 2009.
- NAKAZATO, L.; LEMOS, R. A. A.; RIET-CORREA, F. Polioencefalomalacia em bovinos nos estados de Mato Grosso do Sul e São Paulo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 20, n. 3, p. 119-125, 2000.
- NOBRE, V. M. T.; RIET-CORREA, F.; BARBOSA FILHO, J. M.; DANTAS, A. F. M.; TABOSA, I. M.; VASCONCELOS, J. S. Intoxicação por *Crotalaria retusa* (Fabaceae) em equinos no semiárido da Paraíba. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v.24, n. 3, p.132-143, 2004.
- NOVAES, A. P.; LUCAS, S.; ABE, A. S.; FERNANDES, W.; PORTO, G.; ALMEIDA, I. L. *Envenenamento botrópico em bovinos: tratamento opcional*. Circular Técnica nº. 3, Embrapa, UEPAE São Carlos, p. 29, 1986.
- NUNES, S. G.; BOOK, A.; PENTEADO, M. I. O.; GOMES, D. T. *Brachiaria brizantha* cv. *Marandu*. 2. ed. Campo Grande: EMBRAPA-CNPQC, 1985.

- OSWEILLER, G. D.; BUCK, W. B.; BICKNELL, E. J. Production of perirenal edema in swine with *Amaranthus retroflexus*. *American Journal Veterinary Research*, Chicago, v. 30, n. 4, p. 557-566, 1969.
- PARDI, M. C.; SANTOS, J. A. Ossificação pulmonar e calcificação vascular em bovinos do pantanal matogrossense. *Veterinária*, Rio de Janeiro, v. 1, n. 3, p. 3-7, 1947.
- PAVARINI, S. P.; SOARES, M. P.; BANDARRA, P. M.; GOMES, D. C.; BANDINELLI, M. B.; CRUZ, C. E. F.; DRIEMEIER, D. Mortes súbitas em bovinos causadas por *Amorimia exotropica* (Malpighiaceae) no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 31, n. 4, p. 291-296, 2011.
- PEDROSO, P. M. O.; PESCADOR, C. A.; OLIVEIRA, E. C.; SONNE, L.; BANDARRA, P. M.; RAYMUNDO, D. L.; DRIEMEIER, D. Intoxicações naturais por plantas em ruminantes diagnosticadas no setor de Patologia Veterinária da UFRGS no período de 1996-2005. *Acta Scientiae Veterinariae*, Porto Alegre, v. 35, n. 2, p. 213-218, 2007.
- PEIXOTO, P. V.; BRUST, L. A. C.; BRITO, M. F.; FRANÇA, T. N.; CUNHA, B. R. M.; ANDRADE, G. B. Intoxicação natural por *Amaranthus spinosus* (Amaranthaceae) em ovinos no Sudeste do Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 23, n. 4, p. 179-184, 2003.
- PIERCE, K. R.; O'HARA, P. J. Toxic myopathy in Texas cattle. *Southw Veterinary*, v. 20, p. 179-184, 1967.
- QUEIROZ, G. R.; RIBEIRO, R. C. L.; ROMÃO, F. T. N. M. A.; FLAIBAN, K. K. M. C.; BRACARENSE, A. P. F. R. L.; LISBÔA, J. A. N. Intoxicação espontânea de bovinos por *Senna obtusifolia* no estado do Paraná. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 32, n. 12, p. 1263-1271, 2012.
- QUEIROZ, G. R.; RIBEIRO, R. C. L.; FLAIBAN, K. K. M. C.; BRACARENSE, A. P. F. R. L.; LISBÔA, J. A. N. Intoxicação espontânea por *Crotalaria incana* em bovinos no norte do estado do Paraná. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 34, n. 2, p. 823-832, 2013.
- RADOSTITS, E. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. *Veterinary Medicine*. 10th. ed. London: Saunders, 2007.
- 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*, Seropédica, v. 21, p. 38-42, 2001.
- RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M.; DANTAS, A. F. M. *Plantas Tóxicas da Paraíba*. Patos: Universidade Federal de Campina Grande, 2006. p. 31-32.
- RIET-CORREA, G.; RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; DRIEMEIER, D. Wasting and death in cattle associated with chronic grazing of *Brachiaria decumbens*. *Veterinary Human Toxicology*, Manhattan, v. 44, p. 179-180, 2002.

- RISSI, D. R.; RECH, R. R.; PIEREZAN, F.; GABRIEL, A. L.; TROST, M. E.; BRUM, J. S.; KOMMERS, G. D.; BARROS, C. S. L. Intoxicações por plantas e micotoxinas associadas a plantas em bovinos no Rio Grande do Sul: 461 casos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 27, n. 7, p. 261-268, 2007.
- SANTOS, A. C.; CARVALHO, N. M.; RIBAS, N. L. K. S.; SANTOS, A. G. T.; LEAL, P. V.; LEMOS, R. A. A. Surtos de intoxicação por *Senna occidentalis* e *Senna obtusifolia* em bovinos a pastoreio. In: *Congresso Brasileiro de Buiatria*, 9, 2011. *Anais...* Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2011, p. 523-526.
- SANTOS, A. C.; FACCIN, T. C.; CARVALHO, N. M.; LEAL, P. V.; POTT, A.; LEMOS, R. A. A. Intoxicação experimental por *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae) em ovinos e indução de resistência ao consumo da planta. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 33, n. 3, p. 299-304, 2013.
- SEIXAS, J. N.; PEIXOTO, P. V.; ARMIÉN, A. G.; JABOUR, F. F.; BRITO, M. F. Aspectos clínicos e patogênicos da intoxicação por abamectina em bezerros. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 26, n. 3, p. 161-166, 2006.
- SOUTO, M. A. A.; KOMMERS, G. D.; BARROS, C. S. L.; PIAZER, J. V. M.; RECH, R. R.; RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L. Neoplasias do trato alimentar superior de bovinos associadas ao consumo espontâneo de samambaia (*Pteridium aquilinum*). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 26, p. 112-122, 2006a.
- SOUTO, M. A. M.; KOMMERS, G. D.; BARROS, C. S. L.; RECH, R. R.; PIAZER, J. V. M. Neoplasmas da bexiga associados à hematuria enzoótica bovina. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 36, p. 1647-1650, 2006b.
- SOUZA, R. I. C.; RIET-CORREA, F.; BRUM, K. B.; FERNANDES, C. E.; BARBOSA-FERREIRA, M.; LEMOS, R. A. A. Intoxicação por *Brachiaria* spp em bovinos no Mato Grosso do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 30, n. 12, p. 1036-1042, 2010.
- SPLENGLER, R. O.; BUSSINATI JÚNIOR, L. C.; NOGUEIRA, A. P. A.; LEMOS, R. A. A. Intoxicação por polpa cítrica em bovinos confinados em Mato Grosso do Sul. In: *Encontro Nacional de Laboratórios de Diagnóstico Veterinário - ENDIVET*, 2006, Campo Grande. CD-ROM, 2006.
- SUMMERS, B. A.; CUMMINGS, J.F.; LAHUNTA, A. *Veterinary Neuropathology*. London: Mosby, 1995.
- TAKEUTI, K. L.; RAYMUNDO, D. L.; BANDARRA, P. M.; OLIVEIRA, L. G. S.; BOABAID, F. M.; BARRETO, L.; DRIEMEIER, D. Surto de intoxicação por *Senna occidentalis* em bovinos em pastoreio. *Acta Scientiae Veterinariae*, Porto Alegre, v. 39, n. 1, p. 954, 2011.
- THRUSFIELD, M. *Epidemiologia Veterinária*. 2. ed. São Paulo: Roca, 2004.

- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. “Espichamento”, intoxicação de bovinos por *Solanum malacoxydon*, no Pantanal de Mato Grosso II. Estudos complementares. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Série Veterinária, Brasília, v. 9, p. 53-62, 1974.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. Intoxicação de bovinos por *Vernonia rubricaulis* (Compositae) em Mato Grosso. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 2, n. 4, p. 143-147, 1982.
- TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V. A importância dos acidentes ofídicos como causa de mortes em bovinos no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 26, n. 2, p. 55-68, 2006.
- TOKARNIA, C. H.; BRITO, M. F.; BARBOSA, J. D.; PEIXOTO, P. V.; DÖBEREINER, J. *Plantas Tóxicas do Brasil*. 2. ed. Rio de Janeiro: Helianthus, 2012.
- TRAVERSO, S. D.; LORETTI, A. P. L.; DONINI, M. A.; DRIEMEIER, D. Lead poisoning in cattle in Southern Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 56, p. 418-421, 2004.
- UBIALI, D. G.; BOABAID, F. M.; BORGES, N. A.; CALDEIRA, F. H. B.; LODI, L. R. PESCADOR, C. A.; SOUZA, M. A.; COLODEL, E. M. Intoxicação aguda com sementes de *Crotalaria spectabilis* (Leg. Papilionoideae) em suínos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 31, n. 4, p. 313-318, 2011.
- UBIALI, D. G.; SILVA, R. G. F.; OLIVEIRA, L. P.; MORAES, L. G.; Caldeira, F. H. B.; PESCADOR, C. A.; COLODEL, E. M. Obstrução intestinal em bovinos causada pelo consumo de *Stylosanthes* ssp. (Fabaceae Papilionoideae). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 33, n. 2, p. 148-154, 2013.
- VERDES, J. M.; MORAÑA, A.; RIET-CORREA, F.; GIMENO, E. J.; RIVERO, R.; DUTRA, F.; LEMOS, R. A. A.; EASTON, C.; MORAES, J.; ZONONIANI, R.; SANTOS, C. G.; CAPELLI, A.; DOMÍNGUEZ, R.; CALLIARI, A.; BATTES, D.; GUTIÉRREZ, F.; RUIZ, P. *Neuropatología y Neurotoxicología em Ruminantes*. Montevideo: Imprensa GEGA S. R. L., 2007.
- VIEIRA, R. N. F.; VARASCHIN, M. S.; BEZERRA JUNIOR, P. S.; WOUTERS, F.; LOURES, R. A.; NOGUEIRA, A. M.; PAVARINI, S. P. Intoxicação por polpa cítrica em bovinos de corte e de leite no Sul de Minas Gerais. In: *Encontro Nacional de Patologia Veterinária*, 13, 2007, Campo Grande. *Anais...* Campo Grande: Equali, 2007.

Tabela 1. Doenças Tóxicas diagnosticadas em bovinos pelo Laboratório de Anatomia Patológica (LAP), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), durante o período de 2000-2012.

Doenças tóxicas de Bovinos						
Intoxicações por plantas	Nº casos	Nº surtos	% dos surtos	Idade (meses)	Morbidade (%)	Letalidade (%)
<i>Brachiaria</i> spp.	29	29	27,88	6-144	0,03-37,5	10-100
<i>Vernonia rubricaulis</i>	30	26	25,0	14-60	0,25-100	76,92-100
<i>Amorimia pubiflora</i>	17	12	11,54	12-96	0,05-6,55	24-100
Nefropatia Tóxica	13	10	9,62	2-36	0,08-100	10-100
<i>Senna occidentalis</i> e/ou <i>S. obtusifolia</i>	18	9	8,65	12-36	0,17 - 3,88	11,11-100
<i>Enterolobium contortisiliquum</i>	4	4	3,85	18-60	2,06-3,53	40-83,33
Polpa Cítrica	5	4	3,85	18-24	2,69-4,26	71,43-100
<i>Stylosanthes</i> spp.	3	3	2,88	15 - 26	0,02	100
<i>Tetrapteryx multiglandulosa</i>	5	2	1,92	24 - 36	3,16 - 79,31	3,04 -100
<i>Simarouba versicolor</i>	2	1	0,96	36	2,85	94,74
<i>Crotalaria</i> spp.	1	1	0,96	30	0,09	100
<i>Pterodon emarginatus</i>	1	1	0,96	>24	NI ^a	NI
<i>Solanum malacoxylon</i>	1	1	0,96	NI	1,67	2
<i>Manihot</i> spp.	3	1	0,96	24 - 36	100	100
TOTAL	132	104	100,00			
Outras doenças tóxicas	Nº casos	Nº surtos	% dos surtos	Idade (meses)	Morbidade (%)	Letalidade (%)
Chumbo	10	4	30,77	24-36	0,06-16,31	50-100
Ureia	3	3	23,08	36	0,6-10	100
Cloreto de Sódio	2	2	15,38	15-24	NI	100
Acidente Ofídico	2	2	15,38	36-150	1,25	100
Abamectina	2	2	15,38	10 - 24	5,4 - 14,06	55,56 - 93,33
TOTAL	19	13	100,00			

^aNI - Não Informado

Figura 1. Plantas tóxicas de interesse pecuário em Mato Grosso do Sul: (A) Inflorescência e sementes de *Vernonia rubricaulis*; (B) Inflorescência de *Amorimia pubiflora*; (C) Frutos de *Enterolobium contortisiliquum*; (D) Broto de *Simarouba versicolor*; (E) Infrutescência de *Tetrapterys multiglandulosa* e (F) Folhas e frutos de *Pterodon emarginatus*.



Fonte: Elaboração dos autores.

ANEXO

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Os trabalhos para submissão devem ser enviados por via eletrônica, através do e-mail <jurgen.dobereiner@terra.com.br>, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word. Havendo necessidade (por causa de figuras "pesadas"), podem ser enviados em CD pelo correio, com uma via impressa, ao Dr. Jürgen Döbereiner, Revista PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, Caixa Postal 74.591, Seropédica, RJ 23890-000. Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista.

Para abreviar sua tramitação e aceitação, os trabalhos sempre devem ser submetidos conforme as normas de apresentação da revista (www.pvb.com.br) e o modelo em Word (PDF no site). Os originais submetidos fora das normas de apresentação, serão devolvidos aos autores para a devida adequação.

Apesar de não serem aceitas comunicações (*Short communications*) sob forma de "Notas Científicas", não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve, porém, conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo. Trabalhos sobre Anestesiologia e Cirurgia serão recebidos para submissão somente os da área de Animais Selvagens.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os trabalhos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (*peer review*).

NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista (impressa e online) e distribuição via correio é cobrada taxa de publicação (page charge) no valor de R\$ 250,00 por página editorada e impressa, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência.

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (ou combinação destes dois últimos), Agradecimentos e REFERÊNCIAS:

a) o Título do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) O(s) Autor(es) deve(m) sistematicamente encurtar os nomes, tanto para facilitar sua identificação científica, como para as citações bibliográficas. Em muitos casos isto significa manter o primeiro nome e o último sobrenome e abreviar os demais sobrenomes:

Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto ou Peixoto PV.; Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa ou Riet-Correa F.; Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva poderia usar Silvana M.M.S. Silva, inverso Silva S.M.M.S., ou Silvana M.M. Sousa-Silva, inverso, Sousa-Silva S.M.M., ou mais curto, Silvana M. Medeiros-Silva, e inverso, Medeiros-Silva S.M.; para facilitar, inclusive, a moderna indexação, recomenda-se que os trabalhos tenham o máximo de 8 autores;

c) o ABSTRACT deverá ser apresentado com os elementos constituintes do RESUMO em português, podendo ser mais explicativos para estrangeiros. Ambos devem ser seguidos de "INDEX TERMS" ou "TERMOS DE INDEXAÇÃO", respectivamente;

d) o RESUMO deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões. Nos trabalhos em inglês, o título em português deve constar em negrito e entre colchetes, logo após a palavra RESUMO;

e) a INTRODUÇÃO deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho;

f) em MATERIAL E MÉTODOS devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores. Na experimentação com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local;

g) em RESULTADOS deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. Quadros devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos (Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;

h) na DISCUSSÃO devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

i) as CONCLUSÕES devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho;

j) Agradecimentos devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

k) a Lista de REFERÊNCIAS, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando-se os nomes de todos os autores, em caixa alta e baixa (colocando as referências em ordem cronológica quando houver mais de dois autores), o título de cada publicação e, abreviado ou por extenso (se tiver dúvida), o nome da revista ou obra, usando as instruções do "Style Manual for Biological Journals" (American Institute for Biological Sciences), o "Bibliographic Guide for Editors and Authors" (American Chemical Society, Washington, DC) e exemplos de fascículos já publicados (www.pvb.com.br).

2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as seguintes normas:

a) os trabalhos devem ser submetidos seguindo o exemplo de apresentação de fascículos recentes da revista e do modelo constante do site sob "Instruções aos Autores" (www.pvb.com.br). A digitalização deve ser na fonte Cambria, corpo 10, entrelinha simples; a página deve ser no formato A4, com 2cm de margens (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das figuras e os Quadros no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras (inclusive gráficos) devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Quando incluídos no texto do trabalho, devem ser introduzidos através da ferramenta "Inserir" do Word; pois imagens copiadas e coladas perdem as informações do programa onde foram geradas, resultando, sempre, em má qualidade;

b) a redação dos trabalhos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o trabalho; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada. Todos os Quadros e todas as Figuras serão mencionados no texto. Estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corriqueiramente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas.

c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores e o e-mail do autor para correspondência, bem como e-mails dos demais autores (para eventualidades e confirmação de endereço para envio do fascículo impresso);

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema "autor e ano"; trabalhos de até três autores serão citados pelos nomes dos três, e com mais de três, pelo nome do primeiro, seguido de "et al.", mais o ano; se dois trabalhos não se distinguem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos. **Trabalhos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, "(Resumo)" ou "(Apud Fulano e o ano.)"; a referência do trabalho que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez.** A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exemplo: (Christian & Tryphonas 1971, Priestler & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007);

f) a Lista das REFERÊNCIAS deverá ser apresentada isenta do uso de caixa alta, com os nomes científicos em itálico (grifo), e sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. As Figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) originais devem ser preferencialmente enviadas por via eletrônica. Quando as fotos forem obtidas através de câmeras digitais (com extensão ".jpg"), os arquivos deverão ser enviados como obtidos (sem tratamento ou alterações). Quando obtidas em papel ou outro suporte, deverão ser anexadas ao trabalho, mesmo se escaneadas pelo autor. Nesse caso, cada Figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte inferior da figura pela palavra "pé". Os gráficos devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e preto, sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da Figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura. Fotografias deverão ser apresentadas preferentemente em preto e branco, em papel brilhante, ou em diapositivos ("slides"). Para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope.

Na versão online, fotos e gráficos poderão ser publicados em cores; na versão impressa, somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras poderá ser em cores.

4. As legendas explicativas das Figuras conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, com independência do texto) e serão apresentadas no final do trabalho.

5. Os Quadros deverão ser explicativos por si mesmos e colocados no final do texto. Cada um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para agrupamento de colunas. Não há traços verticais. Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomendoando, se possível, com "a" em cada Quadro; as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.