

**UFRRJ**

**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**

**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA  
VETERINÁRIA**

**DISSERTAÇÃO**

**Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da  
intoxicação experimental por monofluoroacetato  
de sódio em ovinos**

**Tiago da Cunha Peixoto**

**2010**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
(PATOLOGIA ANIMAL E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**ASPECTOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS E LABORATORIAIS DA  
INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR  
MONOFLUOROACETATO DE SÓDIO EM OVINOS**

**TIAGO DA CUNHA PEIXOTO**

*Sob a Orientação da Professora*  
**Marilene de Farias Brito Queiroz**

*e Co-orientação do Professor*  
**Paulo Fernando de Vargas Peixoto**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia Animal.

Seropédica, RJ  
Janeiro de 2010

636.3089

P379a

T

Peixoto, Tiago da Cunha, 1983-.

Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos / Tiago da Cunha Peixoto - 2010.

127 f. : il.

Orientador: Marilene de Farias Brito

Queiroz.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária.

Bibliografia: f. 92-118.

1. Ovino - Doenças - Teses. 2. Intoxicação - Teses. 3. Patologia - Teses. I. Queiroz, Marilene de Farias Brito, 1960-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. III. Título.

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

**TIAGO DA CUNHA PEIXOTO**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Concentração em Patologia Animal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 21/01/2010



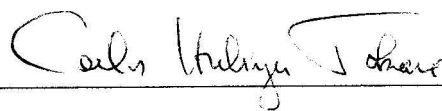
---

Marilene de Farias Brito. MV, Dr. UFRRJ  
(Orientadora)



---

Cícero Araújo Pitombo. MV, Dr. UFF



---

Carlos Hubinger Tokarnia. MV, Dr. UFRRJ

Aos meus pais, a minha irmã e a minha  
namorada, por todo o amor, apoio,  
incentivo e conselhos que foram  
essenciais para esta conquista.

## AGRADECIMENTOS

*A Deus pela minha vida, família, saúde e oportunidades.*

*Aos meus pais, Paulo José Peixoto e Elenice da Cunha Peixoto e a minha irmã Luiza da Cunha Peixoto por zelarem sempre pela minha educação e formação moral, pelos sábios ensinamentos de vida e exemplos de caráter. Obrigado pela confiança, amizade, conselhos e apoio incondicional.*

*À Professora Marilene de Farias Brito por despertar em mim a vontade de querer ser patologista, através de sua sabedoria e amor cativante à profissão. Agradeço pela primeira oportunidade na patologia, por ter me recebido como monitor e me orientado no mestrado visando sempre o meu aprendizado. Obrigado pelo apoio na execução desse trabalho e pelos inúmeros ensinamentos técnicos.*

*Ao Mestre Paulo Vargas Peixoto, grande patologista e pessoa que admiro muito. Obrigado pelo apoio e dedicação na execução desse trabalho. Agradeço pela confiança em mim depositada, pela oportunidade, pelos grandes e valiosos ensinamentos técnicos e estímulo ao estudo.*

*À Professora Ticiano do Nascimento França, agradeço pelos ensinamentos, pela ajuda e apoio no desenvolvimento desse trabalho.*

*Ao Grande Mestre Carlos Hubinger Tokarnia, ilustre pesquisador e pessoa, exemplo de profissional que tive o privilégio de conhecer e conviver. Agradeço pela grande ajuda na realização deste trabalho. Obrigado pelos nobres ensinamentos, pela paciência e apoio.*

*Aos amigos Ana Paula Gama Aragão, Vivian Assunção Nogueira, Saulo Andrade Caldas, Michel Abdalah Helayel, Elise Miyuki Yamasaki, Luís Gustavo Oliveira, Bruno Martini-Santos, pela valiosa ajuda nos experimentos.*

*À minha namorada Juliana Torres Zoltay pelo incentivo, apoio, carinho e amor durante todo este trabalho. Te amo!*

*Aos colegas Cleide Domingues Coelho e Cristiano Veiga pela dedicação na realização dos exames complementares.*

*À CAPES, pelo apoio financeiro.*

*Enfim, agradeço a todos que contribuíram para a realização deste trabalho.*

## RESUMO

PEIXOTO, Tiago da Cunha. **Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos**. 2010. 127p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Patologia Animal). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

O monofluoroacetato de sódio (MF) tem sido isolado de diversas plantas na África do Sul e na Austrália, bem como de três (*Palicourea marcgravii*, *Arrabidaea bilabiata* e, possivelmente, de *Mascagnia rigida*) das 12 plantas brasileiras que causam “morte súbita” (BSDCP) em bovinos. O MF bloqueia o ciclo de Krebs e a produção de ATP. A morte sobrevém pelo efeito mais intenso sobre o coração, SNC, ou ambos, dependendo da espécie animal intoxicada. Em 1959, Döbereiner e Tokarnia detectaram no rim de bovinos intoxicados por *P. marcgravii*, uma lesão por eles considerada típica para essa intoxicação, a degeneração hidrópico-vacuolar (DHV) dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear. Mais tarde verificou-se que esse tipo de alteração também aparecia no rim de bovinos intoxicados com todas as outras BSDCP. O objetivo deste trabalho foi verificar se a ingestão de doses únicas e de frações diárias da dose letal de MF a seis ovinos induz a clássica DHV observada no rim de bovinos intoxicados por BSDCP, o que indicaria que esse composto é responsável pelas mortes dos animais que ingeriram essas plantas. O MF foi administrado, por via oral, em doses únicas de 0,5 e 1,0 mg/kg, cada dose para dois ovinos, e em doses subletais repetidas diariamente de 0,1 mg/kg/dia, por quatro dias, e 0,2 mg/kg/dia, por seis dias, cada dose para um ovino. Todos os ovinos que receberam o MF morreram, exceto um que recebeu 0,5 mg/kg e, não mostrou sintomas. A evolução da intoxicação variou de 3min a 33h:5min. Clinicamente os animais apresentaram taquicardia, respiração abdominal, tremores musculares, ligeira perda de equilíbrio, por vezes cambaleavam, deitavam e apoiavam a cabeça no flanco. Na fase final, os ovinos caíam em decúbito lateral, esticavam os membros, faziam movimentos de pedalagem, apresentavam opistótono e morriam. O exame ecocardiográfico evidenciou dilatação cardíaca e redução da fração de encurtamento sistólico. A análise dos níveis séricos de uréia e creatinina revelou moderada a acentuada azotemia. O MF provocou “morte súbita” em todos os ovinos que mostraram sintomas. À necropsia verificaram-se aurículas e veias jugulares, cavas, ázigos e pulmonares moderadamente ingurgitadas e, em alguns animais, edema pulmonar. O exame histopatológico revelou, em todos os animais, leve a acentuada DHV das células epiteliais dos túbulos contornados distais, associada à picnose nuclear. Adicionalmente, verificou-se discreta vacuolização e, por vezes, necrose de coagulação de hepatócitos. Não encontramos referências a esse tipo peculiar de lesão, à exceção das descrições sobre lesões renais associadas à ingestão de BSDCP e de recentes estudos em bovinos intoxicados com MF. De fato, DHV tem sido observada em animais que desenvolvem nefrose tubular tóxica aguda, porém, nestes casos, a alteração não está restrita aos túbulos distais e não cursa com picnose nuclear. Dessa forma, esse trabalho demonstra, em ovinos, que tanto doses letais únicas quanto subdoses diárias de MF induzem a DHV dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear, o que confirma que essa substância é o princípio tóxico determinante da morte dos animais intoxicados por plantas brasileiras que causam “morte súbita”.

**Palavras-chave:** monofluoroacetato de sódio, patologia, ovino.

## ABSTRACT

PEIXOTO, Tiago da Cunha. **Clinic-pathological and laboratory aspects of experimental poisoning by sodium monofluoroacetate in sheep.** 2010. 127p. Dissertation (Master Science in Veterinary Medicine, Animal Pathology). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica , RJ, 2010.

Sodium monofluoroacetate (MF) has been isolated from several plants in South Africa and Australia, as well as in Brazil from three (*Palicourea marcgravii*, *Arrabidaea bilabiata* and, probably from *Mascagnia rigida*) of the 12 plants that cause "sudden death" in cattle. MF blocks the Krebs cycle and the production of ATP. The death is due to the most intense effect either on the heart, SNC, or both, depending on the poisoned animal species. In 1959, Döbereiner and Tokarnia detected hydropic-vacuolar degeneration (HVD) of the distal convoluted uriniferous tubules, associated with nuclear picnosis, a lesion they considered typical for the poisoning by *P. marcgravii*. Furthermore, it was seen that this alteration also appears in the kidney of cattle poisoned by all the other Brazilian sudden death causing plants (BSDCP). The objective of this study was to verify if the ingestion of single doses of MF and daily quantities of 1/2.5 and 1/5 of the lethal dose in six sheep causes the same lesion in the kidney of cattle poisoned by BSDCP. This would prove that MF is responsible for the death of animals which ingest these plants. MF was administered orally in single doses of 0.5 and 1.0 mg/kg to four animals, and repeated daily doses of 0.1 and 0.2 mg/kg to two animals. Death occurred in five of six animals. The course of the poisoning lasted from 3 min. to 33h 5 min. Clinically the animals presented palpitation, abdominal breathing, slight balance loss with sometimes swaying gait, the animals laid down and placed the head on their flank. In the "dramatic phase", all the animals fell into lateral decubitus, stretched out the legs, made peddling movements, presented opisthotonus, and died. The electrocardiographical examination showed heart dilatation and reduction of the systolic shortening fraction. Laboratory hematological exams revealed increased urea and creatinine. MF caused the clinical and pathological symptoms of "sudden death". At postmortem examination, heart auricles and jugular, cava, azygos and pulmonary veins of all animals were moderately ingurgitated, and in some sheep, pulmonary edema was observed. Histopathology revealed HVD of the epithelial cells of the distal convoluted uriniferous tubules associated with nuclear picnosis in all animals. Vacuolation and less often necrosis of liver cells was seen in some cases. No references on that peculiar type of lesion could be found in the literature, exception the description of kidney lesions in animals associated with the ingestion of BSDCP, and recent studies of MF poisoning in cattle. HVD has been observed animals that develop toxic tubular nephrosis; however, in these cases, this lesion is not restricted to the distal kidney tubules and does not occur with nuclear picnosis. The present study demonstrated in sheep that single lethal doses or repeated doses of fractions of the lethal doses of MF causes HVD of the distal convoluted uriniferous tubules, associated with nuclear picnosis. This confirms that this compound is the toxic principle responsible for the death of animals poisoned by BSDCP.

**Keywords:** sodium monofluoroacetate, pathology, sheep.



## LISTA DE FIGURAS

	<b>PÁGINA</b>
<b>Figura 1</b>	Estrutura química do monofluoroacetato de sódio ..... 3
<b>Figura 2</b>	“Coleiras tóxicas” anexadas à garganta de um ovino (A) e de um caprino (B) ..... 6
<b>Figura 3</b>	Estrutura química do fluorocitrato ..... 8
<b>Figura 4</b>	Estrutura parcial do complexo aconitase-fluorocitrato ..... 8
<b>Figura 5</b>	Bloqueio do ciclo de Krebs pelo monofluoroacetato de sódio ..... 9
<b>Figura 6</b>	Aspecto botânico de <i>Palicourea marcgravii</i> ..... 43
<b>Figura 7</b>	Monofluoroacetato de sódio utilizado nos experimentos ..... 58
<b>Figura 8</b>	Intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Exame ecocardiográfico (Ovino 5766) ..... 60
<b>Figura 9</b>	Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Ovino 5766 (doses repetidas de 0,2 mg/kg/6dias) apático e com jugular ingurgitada (seta) ..... 65
<b>Figura 10</b>	Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Ovino 5761 (dose única de 0,5 mg/kg) em decúbito esternal e postura de auto-auscultação ..... 65
<b>Figura 11</b>	Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Ovino 5766 (doses repetidas de 0,2 mg/kg/6dias) prostrado, com pescoço distendido e cabeça apoiada no chão ..... 66
<b>Figura 12</b>	Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Ovino 5761 (dose única de 0,5 mg/kg) eliminando líquido espumoso pelas narinas e boca, o que caracteriza acentuado edema pulmonar ..... 66
<b>Figura 13</b>	Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Ovino 5765 (dose única de 1,0 mg/kg) com rigidez dos membros na “fase dramática” ..... 67

<b>Figura 14</b>	Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Ovino 5762 (dose única de 1,0 mg/kg) em movimentos de pedalagem na “fase dramática” .....	67
<b>Figura 15</b>	Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Veia jugular acentuadamente ingurgitada (seta). Ovino 5765 (dose única de 1,0 mg/kg) .....	72
<b>Figura 16</b>	Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Veias cava caudal (CL) e cranial (C), ázigos direita (A), costo cervical (CC) repletas. Ovino 5765 (dose única de 1,0 mg/kg) .....	73
<b>Figura 17</b>	Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Ovino 5766 (doses repetidas de 0,2 mg/kg/6dias) com aurícula esquerda (AU), veias cava caudal (CL) e cranial (C) e ázigos direita (A) repletas .....	73
<b>Figura 18</b>	Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Ovino 5762 (dose única de 1,0 mg/kg) com acentuado edema pulmonar caracterizado por espuma rosada na traquéia .....	74
<b>Figura 19</b>	Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Ovino 5761 (dose única de 0,5 mg/kg) com acentuado edema pulmonar .....	74
<b>Figura 20</b>	Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear (seta). Obj. 25. Ovino 5761 (dose única de 0,5 mg/kg) .....	78
<b>Figura 21</b>	Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear. Lesão incipiente (seta) e lesão mais avançada (cabeça da seta) caracterizada por marcada picnose nuclear. Obj. 16. Ovino 5766 (dose repetidas de 0,2 mg/kg/6dia) .....	78
<b>Figura 22</b>	Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear (seta - lesão incipiente e cabeça da seta - lesão mais avançada, caracterizada por marcada picnose nuclear). No detalhe, picnose nuclear (seta) e vacuolização citoplasmática (cabeça da seta). Obj. 25. Ovino 5764 (dose repetidas de 0,1 mg/kg/4dia) .....	79

<b>Figura 23</b>	Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear (seta). Obj. 25. Ovino 5766 (dose repetidas de 0,2 mg/kg/6dia) .....	79
<b>Figura 24</b>	Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear. Lesão incipiente (seta). No detalhe, núcleos picnóticos (seta) e sem alteração (cabeça da seta). Obj. 40. Ovino 5762 (dose única de 1,0 mg/kg) .....	80
<b>Figura 25</b>	Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos retos associada à picnose nuclear (seta). Obj. 25. Ovino 5766 (dose repetidas de 0,2 mg/kg/6dia) .....	80

## LISTA DE TABELAS

		Página
<b>Tabela 1</b>	Países que fazem uso do monofluoroacetato de sódio atualmente no controle populacional de espécies-alvo .....	7
<b>Tabela 2</b>	Doses orais letais do MF para diferentes espécies animais e para o homem .	11
<b>Tabela 3</b>	Dose oral letal média e progressão da intoxicação por MF em diferentes espécies animais .....	12
<b>Tabela 4</b>	Intoxicações acidentais por MF notificadas na Nova Zelândia entre 1980 e 1992 .....	18
<b>Tabela 5</b>	Quadro clínico causado por pesticidas considerados diagnósticos diferenciais da intoxicação por MF em cães e gatos .....	34
<b>Tabela 6</b>	Aspectos clínico-patológicos da intoxicação experimental pelas outras nove plantas tóxicas brasileiras que causam “morte súbita” em bovinos e, que provavelmente, contêm MF como princípio ativo .....	40
<b>Tabela 7</b>	Substâncias isoladas de <i>Palicourea marcgravii</i> .....	42
<b>Tabela 8</b>	Principais dados sobre o delineamento experimental e desfecho da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos .....	64
<b>Tabela 9</b>	Análises bioquímicas dos ovinos intoxicados experimentalmente com doses únicas de monofluoroacetato de sódio .....	69
<b>Tabela 10</b>	Análises bioquímicas dos ovinos intoxicados experimentalmente com subdoses diárias de monofluoroacetato de sódio .....	70
<b>Tabela 11</b>	Resultados dos exames ecocardiográficos realizados no ovino 5766 (0,2 mg/kg/dia) .....	71
<b>Tabela 12</b>	Resultados dos experimentos com monofluoroacetato de sódio em ovinos ..	76
<b>Tabela 13</b>	Alterações histopatológicas observadas no rim de ovinos intoxicados por MF .....	81

## LISTA DE ABREVIÇÕES

<b>ADP</b>	Adenosina difosfato
<b>Anvisa</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>ATP</b>	Adenosina trifosfato
<b>BSDCP</b>	<i>Brazilian sudden death causing plants</i>
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	Cloreto de cálcio
<b>CCD</b>	Cromatografia em camada delgada
<b>CG</b>	Cromatografia gasosa
<b>CK</b>	Creatinaquinase
<b>CK-MB</b>	Fração cardíaca da creatinaquinase
<b>CLAE</b>	Cromatografia líquida de alta eficiência
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de carbono
<b>CoA</b>	Coenzima A
<b>DCA</b>	Dicloroanilina
<b>DCC</b>	Diclorohexilcarbodiimida
<b>DHV</b>	Degeneração hidrópico-vacuolar
<b>ECG</b>	Eletrocardiograma
<b>EM</b>	Espectometria de massa
<b>EUA</b>	Estados Unidos da América
<b>FC</b>	Frequência cardíaca
<b>FE</b>	Fração de encurtamento
<b>FR</b>	Frequência respiratória
<b>FADH<sub>2</sub></b>	Forma reduzida da flavina-adenina dinucleótido
<b>GABA</b>	Ácido gama-aminobutírico
<b>HCN</b>	Ácido cianídrico
<b>HE</b>	Hematoxilina-eosina
<b>Ht</b>	Hematócrito
<b>IM</b>	Intramuscular
<b>IV</b>	Intravenoso
<b>LD<sub>50</sub></b>	Dose letal mediana
<b>LPCs</b>	<i>Livestock protection collars</i> - “coleiras tóxicas” (sic.)
<b>MAO</b>	Monoamina-oxidase
<b>MF</b>	Monofluoroacetato de sódio
<b>MR</b>	Movimentos ruminais
<b>NADH</b>	Forma reduzida da nicotinamida adenina dinucleotídeo
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>Ov</b>	Ovino
<b>pH</b>	Potencial hidrogeniônico
<b>RMN<sup>19</sup>F</b>	Ressonância magnética nuclear flúor <sup>19</sup>
<b>SAP</b>	Número de registro no Setor de Anatomia Patológica
<b>SC</b>	Subcutânea
<b>SNC</b>	Sistema nervoso central
<b>T°C</b>	Temperatura em graus Celcius
<b>TCD</b>	Túbulos contornados distais
<b>TDA</b>	Departamento de Agricultura do Texas
<b>UNESP</b>	Universidade Estadual Paulista
<b>VO</b>	Via oral
<b>2-Me THBC</b>	2-metiltetraidro-β-carbolina

## SUMÁRIO

	Página
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	3
<b>2.1 Monofluoroacetato de Sódio</b> .....	3
2.1.1 Sinonímias .....	3
2.1.2 Propriedades físico-químicas .....	3
2.1.3 História e utilização do MF .....	4
2.1.4 Toxicocinética e toxicodinâmica .....	7
2.1.5 Toxicidade para os animais domésticos, selvagens e seres humanos .....	10
2.1.6 Tolerância .....	14
2.1.7 Desintoxicação .....	15
2.1.8 Efeito acumulativo .....	15
2.1.9 Intoxicação secundária .....	16
<b>2.1.10 Quadro Clínico-patológico da Intoxicação por MF</b> .....	19
2.1.10.1 Herbívoros.....	19
2.1.10.2 Onívoros .....	21
2.1.10.3 Carnívoros .....	22
2.1.10.4 Roedores .....	23
2.1.10.5 Répteis e anfíbios .....	24
2.1.10.6 Aves .....	24
2.1.10.7 Animais selvagens em cativeiro .....	24
2.1.10.8 Seres humanos .....	24
<b>2.1.11 Diagnóstico da intoxicação por MF</b> .....	25
<b>2.1.12 Prognóstico da intoxicação por MF</b> .....	28
<b>2.1.13 Tentativas terapêuticas na intoxicação por MF</b> .....	28
<b>2.1.14 Diagnóstico diferencial da intoxicação por MF</b> .....	33
2.1.14.1 Intoxicação por organofosforados, carbamatos, organoclorados e estricnina .....	33
2.1.14.2 Deficiência de selênio e vitamina E .....	35
2.1.14.3 “Falling disease” .....	35
2.1.14.4 Intoxicação por plantas cianogênicas .....	35
2.1.14.5 Intoxicação por <i>Ricinus communis</i> (folhas e pericarpo) .....	37
2.1.14.6 Intoxicação por plantas que causam “morte súbita” .....	38
<b>2.2 Ocorrência Natural do MF em Plantas Tóxicas de Interesse Pecuário</b> .....	38
2.2.1 Plantas que contêm MF .....	38
2.2.2 Plantas que provavelmente contêm MF .....	39
<b>2.3 Histórico dos Estudos que Visaram Identificar o Princípio Tóxico de <i>Palicourea marcgravii</i></b> .....	42

<b>2.4</b>	<b>Aspectos Gerais e Clínico-patológicos da Intoxicação por Plantas que Contêm MF</b> .....	48
2.4.1	<i>Palicourea marcgravii</i> .....	48
2.4.2	<i>Arrabidaea bilabiata</i> .....	52
2.4.3	<i>Mascagnia rigida</i> .....	55
<b>3.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	58
3.1	Animais .....	58
3.2	Monofluoroacetato de Sódio .....	58
3.3	Local .....	58
3.4	Delineamento Experimental .....	59
3.5	Exames Complementares .....	59
3.5.1	Bioquímica Sérica .....	60
3.5.2	Urinálise .....	60
3.5.3	Exames Ecocardiográficos .....	60
3.6	Necropsia .....	61
3.7	Histopatologia .....	61
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	62
4.1	Dose Administrada e Evolução Clínica .....	62
4.2	Aspectos Clínicos .....	62
4.2.1	Início dos sinais clínicos .....	62
4.2.2	Quadro clínico geral .....	62
4.3	Exames Complementares .....	68
4.3.1	Bioquímica sérica .....	68
4.3.2	Urinálise .....	68
4.3.3	Exames Ecocardiográficos .....	68
4.4	Achados de Necropsia .....	72
4.5	Achados Histopatológicos .....	75
<b>5.</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	82
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	91
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	92
<b>8.</b>	<b>ANEXOS</b> .....	119
	<b>Anexo A.</b> Resumo dos protocolos dos experimentos .....	119
	<b>Anexo B.</b> Incidência de DHV em bovinos e coelhos intoxicados experimentalmente pelas plantas brasileiras que causam “morte súbita” .	123
	<b>Anexo C.</b> Comparação do quadro clínico da intoxicação pelo MF e por plantas que causam “morte súbita” manifestado por diversas espécies animais. Complementação e modificações das categorias propostas por Chenoweth e Gilman (1946) .....	124
	<b>Anexo D.</b> Período decorrido entre a administração de doses únicas de folhas frescas de <i>Palicourea marcgravii</i> e a morte dos bovinos e a intensidade da DHV.....	127

## 1 INTRODUÇÃO

No Brasil são conhecidas, até o momento, 12 plantas que causam “morte súbita”. Nesse grupo, estão incluídas as plantas tóxicas de interesse pecuário mais importantes do país, e que são, de fato, responsáveis por cerca de 600.000 mortes de bovinos, todos os anos. Dentre essas, destaca-se *Palicourea marcgravii*, por sua elevada toxidez, ampla distribuição, boa palatabilidade e efeito acumulativo (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000). Desde a década de 1930 *P. marcgravii* tem sido objeto de diversos estudos, sobretudo, no que se refere à identificação e quantificação de possíveis substâncias tóxicas ou de ação farmacológica, contudo, não havia consenso, entre os pesquisadores, sobre qual substância, dentre as diversas já isoladas, seria o princípio tóxico da planta capaz de determinar o quadro clínico-patológico e o óbito dos animais intoxicados e, ainda hoje, persistem incertezas.

O monofluoracetato de sódio (MF) tem sido isolado de diversas plantas tóxicas, cuja ingestão determina “morte súbita” na África do Sul e na Austrália; no Brasil, essa substância foi identificada por cromatografia em camada delgada e/ou espectroscopia por ressonância magnética nuclear flúor<sup>19</sup> em *P. marcgravii* (OLIVEIRA, 1963) e *Arrabidaea bilabiata* (KREBS; KEMMERLING; HABERMEHL, 1994); há ainda indícios da presença do MF em *Mascagnia rigida* por técnicas cromatográficas (CUNHA, 2008). Sabe-se que o MF inibe, por competição, a enzima aconitase, o que resulta no bloqueio do ciclo de Krebs e da produção de ATP (PETERS, 1952). O óbito sobrevém pelo efeito mais intenso sobre o coração, SNC, ou ambos, dependendo da espécie animal intoxicada (CHENOWETH; GILMAN, 1946). Embora o quadro clínico-patológico verificado em animais que ingerem essas plantas corresponda, em grande parte, ao observado nos casos de intoxicação por MF, alguns autores acreditam que esse composto não seria o princípio tóxico determinante das mortes dos animais que ingerem essas plantas ou que haveria outras substâncias que poderiam causar a morte dos animais ou contribuir para a toxicidade dessas plantas.

Em 1959, Döbereiner e Tokarnia detectaram no rim de bovinos intoxicados por *P. marcgravii*, uma lesão por eles designada degeneração hidrópico-vacuolar (DHV) dos túbulos uriníferos contornados distais, que consideram típica para essa intoxicação e de grande valor diagnóstico, em função de sua distribuição seletiva, quase exclusiva a esses túbulos e pela marcada picnose nuclear. Mais tarde, verificou-se que tal lesão também aparecia no rim de grande parte dos animais intoxicados com doses únicas de todas as outras 11 plantas brasileiras que causam “morte súbita” e, em parte menor dos bovinos e ovinos que ingerem frações diárias da dose letal de algumas plantas desse grupo. Recentemente, Nogueira (2009) demonstrou que bovinos intoxicados experimentalmente com doses únicas de MF desenvolvem a típica DHV, entretanto, ainda não foi demonstrado se a administração diária de frações da dose letal do MF a animais, bem como se a intoxicação aguda por MF em ovinos é capaz de determinar essa lesão renal e, se esse composto é o responsável pela morte dos animais que ingerem essas plantas.

A demonstração de que a intoxicação por MF é capaz de induzir lesões semelhantes às observadas nos rins de bovinos intoxicados pelas plantas que causam “morte súbita” confirmaria que esse composto é o princípio tóxico determinante da morte dos animais intoxicados por essas plantas. Essa comprovação, além do seu significado diagnóstico, pode ter grande relevância econômica na pecuária, uma vez que estudos genéticos no sentido de tornar bactérias ruminais capazes de metabolizar o MF, tornando-o inócuo, têm sido desenvolvidos na Austrália (GREGG et al., 1998). No Brasil, esses estudos encontram-se em fase inicial de desenvolvimento pelo



intitulado Projeto Milênio coordenado pelo Dr. Franklin Riet-Correa\*. Tal condição tornaria possível a profilaxia da intoxicação natural por plantas que causam “morte súbita” que, é inviável, em termos práticos, através da utilização de antídotos.

O presente trabalho teve como objetivo caracterizar o quadro clínico-patológico e laboratorial da intoxicação experimental por MF em ovinos, com a finalidade de verificar se a ingestão de doses únicas e de frações diárias da dose letal desse composto induzem lesões histológicas semelhantes às observadas nos bovinos e ovinos intoxicados por plantas que causam “morte súbita”, além de confirmar que esse composto é o princípio tóxico responsável pelas mortes dos animais que ingerem essas plantas e realizar uma profunda revisão de literatura acerca da intoxicação por MF em diversas espécies.

---

\*Franklin Riet-Correa, Universidade Federal de Campina Grande/Centro de Saúde e Tecnologia Rural. Hospital Veterinário/ Laboratório de Anatomia Patológica/Campus de Patos – PB, Santa Cecília, 58700-000 - Patos, PB, Brasil.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Monofluoroacetato de Sódio

#### 2.1.1 Sinonímias

O monofluoroacetato de sódio (MF), conhecido quimicamente também como ácido monofluoroacético e fluoroacetato de sódio (OMS, 2001) e, pelo nome popular “mão branca” (BALLANI et al., 2008) é uma das substâncias mais tóxicas já descoberta (SCHWARTE, 1947; TWIGG; KING, 1991; MORAES, 1993; 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 (STEYN, 1934), cujo MF foi identificado por Marais em 1944.

#### 2.1.2 Propriedades físico-químicas

Em relação aos seus aspectos físico-químicos, o MF é um tóxico, cristalino (McGIRR; PAPWORTH, 1955), branco, inodoro, insípido (McGIRR; PAPWORTH, 1955; OLIVEIRA, 1955; EGEKEZE; OEHME, 1979a), higroscópico quando exposto ao ar (EGEKEZE; OEHME, 1979a), solúvel em água, (McGIRR; PAPWORTH, 1955; OLIVEIRA, 1955; GRIBBLE, 1973; EGEKEZE; OEHME, 1979a; EISLER, 1995; BEASLEY, 2002), relativamente insolúvel em solventes orgânicos (McGIRR; PAPWORTH, 1955; EGEKEZE; OEHME, 1979a, EISLER, 1995; BEASLEY, 2002), tais como querosene, álcool, acetona ou óleos vegetais e animais (EGEKEZE; OEHME, 1979a). É uma substância não volátil (OLIVEIRA, 1955), quimicamente estável (OLIVEIRA, 1955; GRIBBLE, 1973) à luz solar e à temperatura de 54° C (EPA, 1995), devido à forte ligação entre os átomos de carbono e flúor, porém é instável a temperaturas superiores a 110° C (EISLER, 1995) e se decompõe a partir de 200° C (EISLER, 1995; BEASLEY, 2002). Algumas soluções aquosas de MF retêm suas propriedades rodenticidas por pelo menos 12 meses, enquanto, outras perdem pelo menos 54% da sua toxicidade após 24 dias (EISLER, 1995). Apresenta fórmula molecular CH<sub>2</sub>FCOONa (Figura 1) e massa molecular 100,02 g/mol (BEASLEY, 2002).

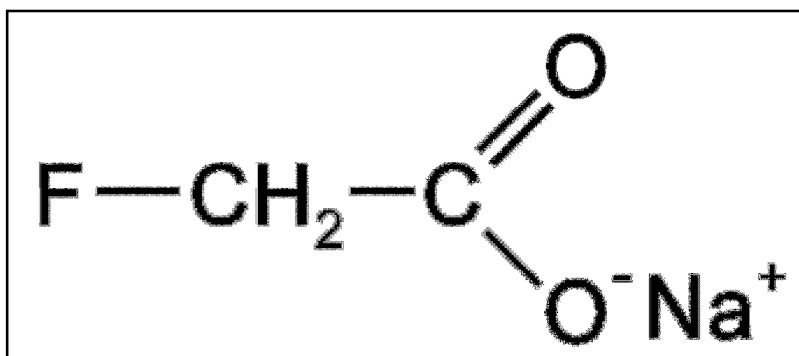


Figura 1. Estrutura química do monofluoroacetato de sódio.

A grande popularidade do MF como agente pesticida de vertebrados, quando comparado a compostos alternativos, se deve a uma série de fatores, incluindo o seu baixo custo (McILROY, 1996; EASON, 1997), potência (McILROY, 1996), alto grau de eficácia (EASON, 1997), relativa facilidade de utilização, em particular, no preparo de iscas, baixo risco de contaminação e de persistência ambiental, bem como de bioacumulação (McILROY, 1996; EASON, 1997). Cabe ressaltar que a persistência do MF em iscas e no ambiente é altamente dependente de fatores ambientais. De fato, em áreas com altos índices de pluviosidade, esse composto é facilmente lixiviado de iscas e, quando atinge o solo, é degradado por pelo menos 20 espécies diferentes de microrganismos, principalmente, por *Pseudomonas* spp. Por outro lado, sua toxicidade e longevidade são maximizadas em áreas com clima frio e seco. Adicionalmente, diversos estudos concluíram que não há nenhuma evidência da persistência do MF no solo ou em cursos de água na Austrália e Nova Zelândia após o término das campanhas de controle de espécies-alvo, onde o MF foi empregado massivamente (AUSTRALIA, 2003).

### 2.1.3 História e utilização do MF

O MF 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 toxidez até a década de **1920** quando foi, inicialmente, reconhecido o seu efeito nocivo contra insetos e patentado como agente anti-traças (TWIGG; KING, 1991).

Na Alemanha, em **1934** foi detectada, pela primeira vez, sua acentuada natureza tóxica (ATZERT, 1971) e na década seguinte, verificou-se o seu potencial como pesticida de vertebrados (KALMABACH, 1945). Entretanto, apenas no ano de **1942** os pesquisadores concluíram que a morte provocada por esse composto era causada por convulsões seguidas de falha respiratória (BRISCOE, 1942; FELDBERG; KILBY; KILBY, 1942). Durante a II Guerra Mundial (**1939-1945**), devido à falta de rodenticidas como tálho e estricnina (EISLER, 1995), foram intensificadas as pesquisas por pesticidas alternativos, a base de MF, visando à produção de um potente raticida capaz de proteger as tropas aliadas contra doenças transmitidas por roedores (CALVER; KING, 1986). Contudo, outro autor acredita que devido à sua grande toxicidade, o MF foi considerado, desde **o início da II Guerra Mundial**, como uma potencial arma de guerra, capaz de envenenar provisões de água das populações inimigas (GRIBBLE, 1973). De fato, segundo Eisler (1995) no **século XVIII** o MF já havia sido usado com esse propósito, quando *Dichapetalum toxicarium*, uma planta Africana, nessa época reconhecida por conter um composto tóxico letal para ratos, animais de produção e humanos, posteriormente, identificado como MF, foi utilizada por nativos da África para envenenar as fontes de água de tribos inimigas.

Em junho de **1944**, o Departamento de Pesquisa Científica e Desenvolvimento dos Estados Unidos forneceu o MF e outras substâncias químicas ao Centro de Pesquisa de Animais Selvagens para serem testados como agentes rodenticidas. O Centro de Pesquisa atribuiu ao MF o número de série 1080. Amostras de MF também foram encaminhadas ao Centro de Pesquisa de Animais Selvagens de Denver, EUA, para testes adicionais em outras espécies animais. Nesses testes, o MF mostrou-se extremamente eficaz e foi empregado extensivamente como rodenticida nos **anos do pós-guerra** (CALVER; KING, 1986), quando, vários países, inclusive a Inglaterra, Estados Unidos, Polônia e Alemanha haviam desenvolvido, independentemente, métodos eficientes para sintetizá-lo (GRIBBLE, 1973). Adicionalmente, verificou-se o eficiente potencial do emprego do MF no controle de predadores de animais de produção (ATZERT, 1971).

Na mesma década, o MF foi introduzido nos Estados Unidos como rodenticida (PROUDFOOT et al., 2006) e, mais tarde, passou a ser utilizado como pesticida de vertebrados, empregado no controle de coiotes (*Canis latrans*) que atacavam rebanhos (EPA, 1995), bem como no controle de coelhos (*Lepus* spp. e *Sylvilagus* spp.) (HORNSHAW et al., 1986; AULERICH et al., 1987), do roedor norte-americano *pocket gopher* (*Geomys* spp.), esquilos (*Spermophilus* spp.) e cães da pradaria (*Cynomys* spp.) (McILROY, 1982a; EISLER, 1995). **Entre 1946 e 1949**, pelo menos 12 pessoas morreram acidentalmente nos Estados Unidos intoxicadas por MF, quando este foi utilizado como rodenticida. Nesta ocasião, uma criança adoeceu após comer carne cozida de um esquilo intoxicado com MF, mas depois se recuperou (EPA, 1976).

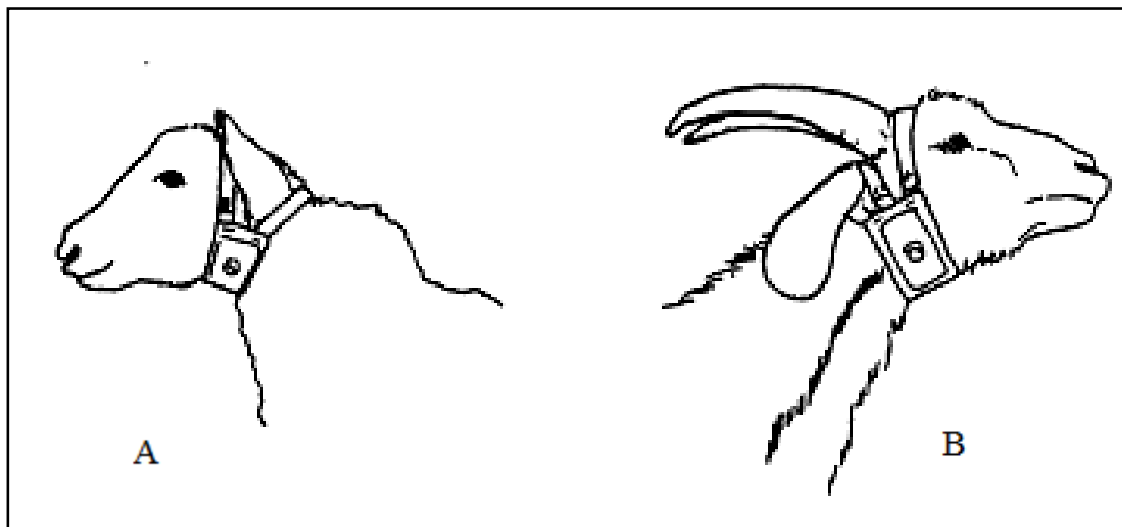
Em **1952**, foi utilizado, pela primeira vez, para controlar populações de coelhos na Tasmânia (CHURCHILL; CORKHILL; RICHARD, 2007) e, em **1954**, foi empregado, com o mesmo objetivo na Nova Zelândia, exclusivamente, para combater espécies animais introduzidas no país como gambás (*Trichosurus vulpecula*), gatos selvagens (*Felis catus*) e coelhos (*Orcytogalus cuniculus*), que se tornaram pragas e causavam prejuízos econômicos e danos ambientais (COWAN, 1991).

Nas décadas seguintes (**1950 e 60**), o MF foi empregado, restritamente, como pesticida de vertebrados, em diversos outros países. Foi utilizado no controle de coiotes e lobos no Canadá, de porcos indianos (*Hystrix indica*) na Índia, de coiotes no México e do chacal de dorso preto (*Canis mesomelas*) na África do Sul (PEACOCK, 1964).

Nos Estados Unidos, entre **1959 e 1969** o MF foi incriminado como o responsável por 16 óbitos de seres humanos, sendo quatro suicídios e pelo menos 12 mortes acidentais. Nesse mesmo período, foram notificados 37 casos de intoxicação por MF em animais domésticos decorrentes de sua utilização por agências governamentais (ATZERT, 1971). Aproximadamente 40 anos depois, foram descritos outros casos do uso de soluções de MF (1%) como tentativa de suicídio (CHI; LIN; CHEN, 1999).

No Brasil, em **1989**, três funcionários da empresa Aços Vilares S.A morreram e 76 foram hospitalizados intoxicados por MF devido à manipulação inadequada do produto (PALERMONETO; MORAES-MOREAU, 1995).

No ano de **1972**, a *U.S. Environmental Protection Agency* tornou o uso do MF ilegal nos Estados Unidos (CALVER; KING, 1986) devido, em parte, às mortes de animais não-álvicos (BALCOMB; BOWEN; WILLIAMSON, 1983) e de espécies ameaçadas de extinção (PALMATEER, 1989, 1990). No entanto, em **1985** foi desenvolvido um novo método para controlar coiotes, que ameaçavam os rebanhos de pequenos ruminantes, através do emprego do MF nos chamados *livestock protection collars* (LPCs) (Figura 2). Esses LPCs, também conhecidos, como “coleiras tóxicas” [sic] (EPA, 1985) são anexados à garganta de ovinos e caprinos e protegem o rebanho de predadores, uma vez que, ao ataque de coiotes, através da típica mordida na região da garganta, o predador se intoxica (WALTON, 1990; BURNS; TIETJIN; CONNOLLY, 1991). Desta forma, em **1985**, o uso dessa substância, foi mais uma vez permitido nos EUA, porém, exclusivamente, para tal finalidade (EPA, 1985).



**Figura 2.** “Coleiras tóxicas” anexadas à garganta de um ovino (A) e de um caprino (B). Fonte: *Texas Department of Agriculture (TDA) (1994)*.

No Brasil, o MF 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 MF 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 à 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 (McILROY, 1982a, 1982b, 1982c; McILROY, 1992; EASON; TURCK, 2002; CHURCHILL; CORKHILL; RICHARD, 2007) e Nova Zelândia (Tabela 1) (NIETO, 2001; BEASLEY, 2002; EASON; TURCK, 2002), onde seu uso é permitido com restrições (NIETO, 2001), no controle da populacional de mamíferos nativos e de outras espécies animais introduzidas no país (CALVER; KING, 1986) que destroem plantações, comprometem a biodiversidade (CHURCHILL; CORKHILL; RICHARD, 2007), causam danos econômicos e ambientais (EASON et al., 1994; COWAN, 1991) e ameaçam espécies nativas por competição (CALVER; KING, 1986) ou predação (CALVER; KING, 1986; EASON, 2002). Nos Estados Unidos, o MF ainda é empregado, exclusivamente, nas chamadas “coleiras tóxicas” (PALMATEER, 1989, 1990; EISLER, 1995; EASON et al., 1999) e, na África do Sul na proteção de rebanhos contra o chacal asiático (*Canis aureus*) (WALTON, 1990).

No Brasil, entre janeiro e março de **2004**, o MF foi utilizado de forma criminosa na Fundação Parque Zoológico de São Paulo, onde, pelo menos, 73 animais morreram intoxicados por esse composto, segundo a perícia (ORTIS, 2005). Aptekman et al. (2003) relatam que cães e gatos são as principais espécies intoxicadas de forma acidental ou criminosa pelo MF, sendo

frequentes os atendimentos clínicos no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP, em Botucatu, SP.

**Tabela 1.** Países que fazem uso do monofluoroacetato de sódio atualmente no controle populacional de espécies-alvo

País	Espécies-alvo	Referências
Austrália	Coelhos europeus ( <i>Orcyotogalus cuniculus</i> ), cães e porcos selvagens ( <i>Canis familiaris dingo</i> e <i>Sus scrofa</i> ) e raposas ( <i>Vulpes vulpes</i> ).	McIlroy (1992)
	Gambás ( <i>Trichosurus vulpecula</i> ), cangurus de Bennett ( <i>Macropus rufogriseus</i> ) e “pademelon” da Tasmânia ( <i>Thylogale billardierii</i> ).	McIlroy (1982a, 1982b, 1982c)
Nova Zelândia	Gambás ( <i>Trichosurus vulpecula</i> ).	Cowan (1991) e Eason (2002)
	Gatos selvagens ( <i>Felis catus</i> ) e coelhos europeus ( <i>Orcyotogalus cuniculus</i> ).	Cowan (1991)
Estados Unidos	Coíotes ( <i>Canis latrans</i> )	Eisler (1995)
África do Sul	Chacal asiático ( <i>Canis aureus</i> )	Walton (1990)

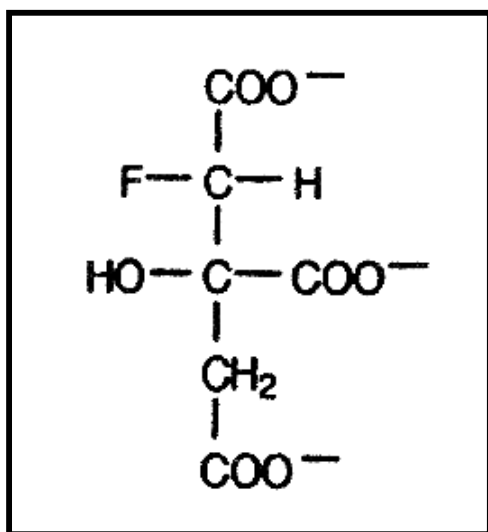
#### 2.1.4 Toxicocinética e toxicodinâmica

O MF é rapidamente absorvido pelos tratos gastrintestinal e respiratório, mas não é bem absorvido através da pele intacta (FOSS, 1948; BROCKMANN; McDOWELL; LEEDS, 1955; ATZERT, 1971). Em geral, a toxicidade do MF é a mesma independentemente se a via de administração do composto for oral, subcutânea, intramuscular, intraperitoneal ou intravenosa (CHENOWETH; GILMAN, 1946; WARD; SPENCER, 1947). Apesar da má absorção dérmica, o manuseio diário do produto por trabalhadores constitui um risco potencial e, nestes casos, são adotados procedimentos rigorosos de segurança (EASON et al., 1999; EASON, 2002).

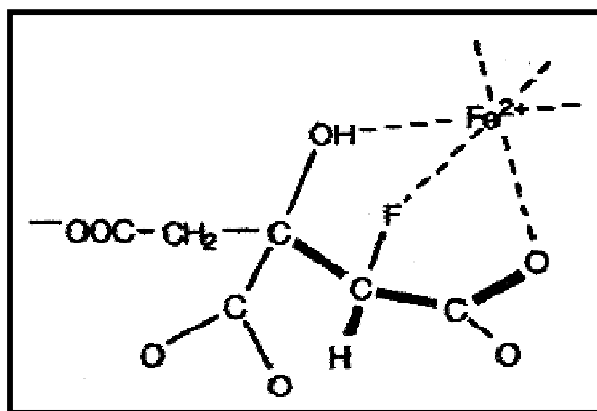
Uma vez absorvido, o composto se distribui uniformemente nos tecidos, incluindo o cérebro, coração, fígado e rim (PEACOCK, 1964). No entanto, antes do aparecimento dos primeiros sinais clínicos há um período de latência, que varia, em geral, entre 30 minutos a duas horas e meia após a administração do MF, independentemente da via de administração empregada (EGEKEZE; OEHME, 1979a). 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 MF seja absorvido, entre nas células e, em especial, para que ocorra a conversão enzimática em seu metabólito tóxico, o fluorocitrato (SHERLEY, 2004) em quantidade suficiente para alterar as funções intracelulares e induzir os sinais clínicos (ATZERT, 1971; PATTISON, 1959). A

variabilidade na duração do período latente entre as diferentes espécies está diretamente relacionada a diferenças nos processos bioquímicos (EGEKEZE; OEHME, 1979a).

A toxicidade do MF ocorre, exclusivamente, pela ação do fluorocitrato (Figura 3), formado no organismo por meio da denominada “síntese letal” (PETERS, 1952). Tal termo foi atribuído à conversão de um composto não tóxico a outro extremamente tóxico por Peters (1952), em contraste à comum “síntese protetora” bem conhecida pelos bioquímicos, onde moléculas estranhas ao organismo são convertidas em compostos de menor toxicidade (STECOL, 1941).

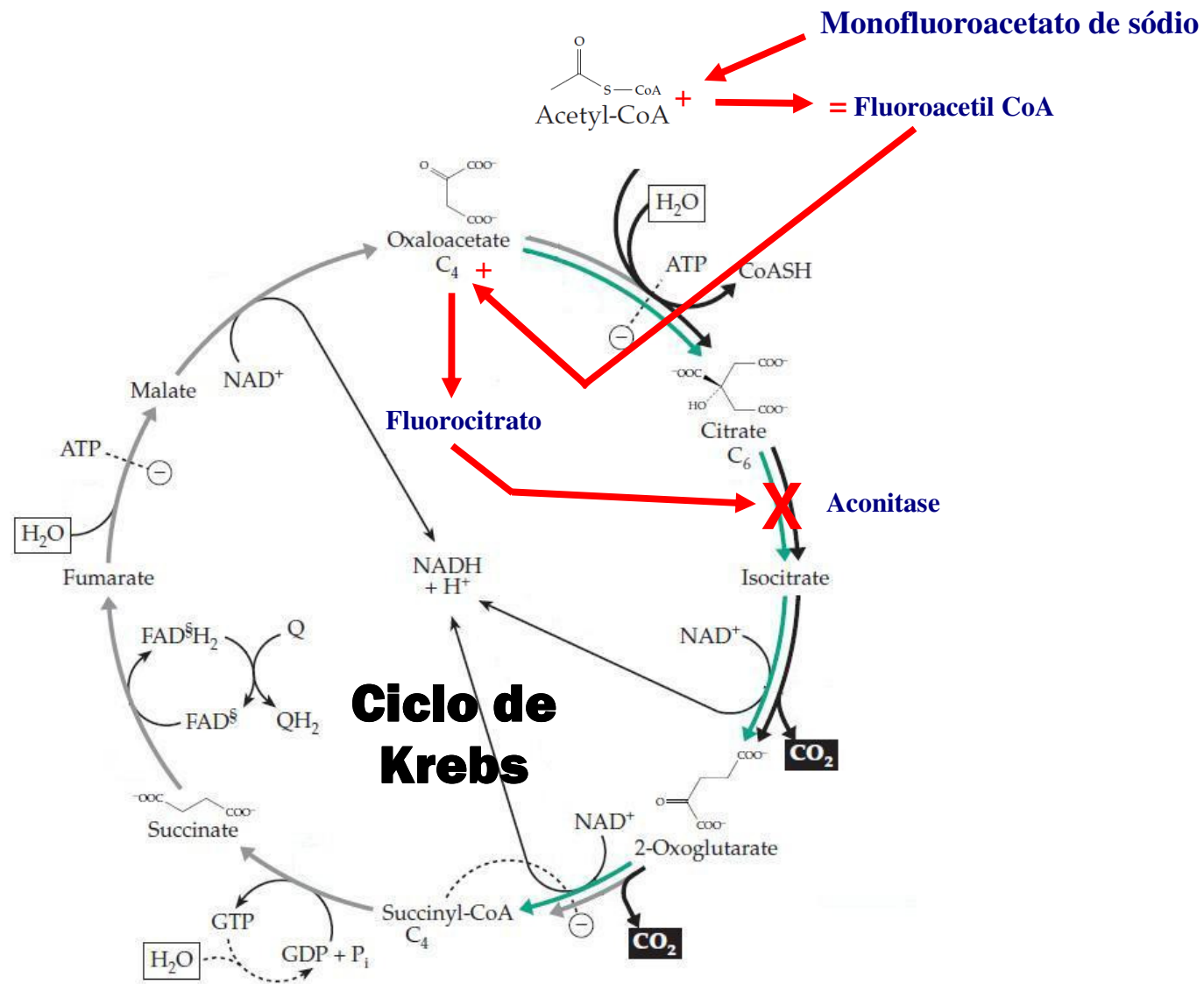


**Figura 3.** Estrutura química do fluorocitrato (Fonte: KREBS; KEMMERLING; HABERMEHL, 1994).



**Figura 4.** Estrutura parcial do complexo aconitase-fluorocitrato (Fonte: KREBS; KEMMERLING; HABERMEHL, 1994).

O fluoroacetato é capaz de mimetizar a função do acetato e se incorporar ao ciclo de Krebs, devido a sua semelhança estrutural com esse composto (PETERS; WAKELIN; BUFFA, 1953; COLLICCHIO-ZUANAZE; SAKATE, 2005). Desta forma, o fluoroacetato se liga à acetil coenzima A (CoA) para formar fluoroacetil CoA, que substitui o acetil CoA no ciclo de Krebs. Deste modo, o fluoroacetil CoA se conjuga com o oxaloacetato e reage com a enzima citrato sintase para produzir fluorocitrato (PETERS, 1952; 1963). Este composto bloqueia competitivamente a aconitase (LOTSPEICH; PETERS; WILLSON, 1952), através da ligação irreversível do átomo F do fluorocitrato ao íon  $Fe^{2+}$  do centro ativo dessa enzima (Figura 4) (KREBS; KEMMERLING; HABERMEHL, 1994) e impede a conversão do citrato em isocitrato (PETERS, 1952; 1963), o que resulta no acúmulo de grandes quantidades de citrato nos tecidos (BUFFA; PETERS, 1949; GAL; PETERS; WAKELIN, 1954). Cabe ressaltar que o citrato, em concentrações normais, age como um precursor da acetil-coenzima A na síntese de ácidos graxos (GROLLMAN, HARRISON; HARRISON, 1961). Em suma, essa sequência de reações acarreta no bloqueio do ciclo de Krebs (PETERS 1952, 1963), também conhecido como ciclo do ácido tricarbóxico ou ciclo do ácido cítrico (NELSON; COX, 2002), o que impede a formação das coenzimas NADH e  $FADH_2$ , não havendo, desta forma, transferência de elétrons para a cadeia respiratória e formação de adenosina trifosfato (ATP) a partir de ADP, conforme apresentado na Figura 5.



**Figura 5.** Bloqueio do ciclo de Krebs pelo monofluoroacetato de sódio. Adaptado de (VICKERY; VICKERY, 1973; GRIBBLE, 1973; EGEKEZE; OEHME, 1979a; MARRAZZI; HOLLIDAY, 1981; COLLICCHIO-ZUANAZE; SAKATE, 2005).



Como consequência, há diminuição da produção de ATP em até 50% e os processos metabólicos dependentes de energia são bloqueados (GAL; PETERS; WAKELIN, 1956; BOWMAN, 1964; WILLIAMSON, 1967). É evidente que os órgãos que possuem alta taxa metabólica, como coração, cérebro e rim, são os mais afetados (SUZUKI, 1999). Além disso, o citrato acumulado no organismo exerce um efeito quelante sobre o cálcio sérico, com consequente hipocalcemia (GAL; PETERS; WAKELIN, 1956; OMARA, SISODIA, 1990). De fato, os níveis de cálcio sérico total são inversamente proporcionais aos do citrato (BOSAKOWSKI; LEVIN, 1986). Segundo alguns autores, o grau da hipocalcemia está relacionado com o prolongamento do intervalo Q-T no ECG (CHENOWETH; GILLMAN, 1947; SHAPIRA; TITELMAN; BURSZTEIN, 1980). Cabe ressaltar, que o prolongamento do intervalo Q-T é associado a risco de vida por arritmias ventriculares e, é relatado como a principal causa do óbito de animais experimentalmente intoxicados por MF, bem como de seres humanos acidentalmente intoxicados por esse composto (TAITEMAN et al., 1983). Outra consequência do acúmulo de citrato nos tecidos é a inibição secundária da enzima fosfofrutoquinase (WILLIAMSON, 1967; GODOY; CARMEN, 1974), com subsequente inibição da glicólise, o que também resulta na redução da produção e oferta de energia, falha da respiração celular seguida de morte celular ((DUNN; BERMAN, 1968; EGEKEZE; OEHME, 1979a).

Adicionalmente, em casos de intoxicação por MF, verifica-se aumento dos níveis de glicose e glicogênio séricos. A hiperglicemia ocorre devido ao aumento dos níveis de cortisol endógeno, que por sua vez, é decorrente de sua inadequada metabolização hepática por baixa disponibilidade de ATP. Como consequência, observa-se hiperglucagonemia, bem como hipoinsulinemia nos animais intoxicados por essa substância (BALLARD; HYDE, 1967). Verifica-se ainda diminuição do metabolismo dos substratos provenientes da oxidação de carboidratos, lipídeos e proteínas no ciclo de Krebs (GAL; PETERS; WAKELIN, 1956), bem como da oxidação do acetato (LIFSON; SVANSON, 1953; GAL; PETERS; WAKELIN, 1956). Ocorre aumento nos níveis de ceto-substâncias no sangue, uma vez que há aumento da síntese hepática de acetoacetato e inibição de sua utilização nos tecidos (LIFSON; SVANSON, 1953). Há marcada redução na utilização de piruvato e da incorporação de CO<sub>2</sub> nos ácidos orgânicos (MEHLMAN, 1968). O acúmulo de ácido lático provoca diminuição do pH sanguíneo (NOVÁK; MISUSTOVÁ; HOSEK, 1972).

O MF afeta ainda, de forma direta ou indireta, a função de diversas outras enzimas, tais como succinato desidrogenase (FANSHIER; GOTTWALD; KUN, 1964), hexoquinase (BOWMAN, 1964), acetil CoA carboxilase, malonil CoA, piruvato carboxilase (MEHLMAN, 1968) e ATP citrato-liase (ROKITA; WALSH, 1983). Contudo, ainda não é bem esclarecida a relevância de tais interferências enzimáticas na toxicidade do MF (SHERLEY, 2007).

### **2.1.5 Toxicidade para os animais domésticos, selvagens e seres humanos**

O MF é altamente tóxico para todas as espécies de animais (HUMPHREYS, 1988), inclusive para o homem (McTAGGART, 1970), no entanto, os efeitos tóxicos são muito variáveis em função da espécie intoxicada e da sensibilidade individual (Tabela 2) (McILROY, 1981). Além disso, o período de latência existente antes do aparecimento dos primeiros sinais clínicos e o intervalo de tempo entre a ingestão do MF e o óbito apresenta diferenças significativas entre as diversas espécies de vertebrados. De fato, alguns animais morrem em poucos minutos e outros sobrevivem por vários dias (McILROY, 1986), conforme apresentado na Tabela 3.

**Tabela 2.** Doses orais letais do MF para diferentes espécies animais e para o homem

Espécie	Dose oral letal (mg/kg)	Referências
Cães	0,06 - 0,20	Parton (2006)
Bovinos	0,15 - 0,62	Humphreys (1988)
Ratos	0,10 - 3,0	Chenoweth (1949)
Ovinos	0,25 - 0,50	Humphreys (1988)
Caprinos	0,30 - 0,70	Humphreys (1988)
Gatos	0,30 - 0,50	Humphreys (1988)
Suínos	0,30 - 0,40	Humphreys (1988)
Cobaíes	0,5 - 1,0	Foss (1948)
Equinos	0,50 - 1,75	Humphreys (1988)
Camundongos	0,50 - 17,0	Chenoweth (1949)
Coelhos	0,80	Parton (2006)
Passeriformes	2,50	Chenoweth (1949)
Galinhas	5,0 - 7,50	Chenoweth (1949)
Macacos	10,0 - 12,0	Foss (1948)
Sapos	150,0 (SC)*	Chenoweth (1949)
Homem	2,0 - 10,0	Gajdusek e Luther (1959);

\* Via subcutânea.

Dentre as diversas espécies animais, os canídeos, em geral, apresentam maior sensibilidade a essa substância, seguidos por outros carnívoros, herbívoros e aves, já os répteis e anfíbios são os menos sensíveis (Tabela 3) (McILROY, 1986). Alguns autores acreditam que tal variação de sensibilidade esta relacionada ao grau de eliminação ou de condensação da substância com o oxaloacetato (HATCH, 1987), bem como com a taxa metabólica do organismo, especificamente, do metabolismo oxidativo celular, que pode favorecer ou não a metabolização e a eliminação de substâncias tóxicas (GONCHAROV; JENKINS; RADILOV, 2005). Contudo, a razão exata para essa variação ainda não é totalmente compreendida (GOH et al., 2005).

Em relação à sensibilidade individual, foi observado que tanto mamíferos jovens quanto fêmeas de mamíferos aquáticos durante o cio, são mais sensíveis ao MF, quando comparados com outros animais da mesma espécie (McILROY, 1981). Outros estudos verificaram que sob temperaturas elevadas (23-37°C) os guaxinins (*Procyon lotor*) são mais sensíveis ao MF do que em temperaturas mais amenas (13-23°C) (EASTLAND; BEASOM, 1986b), assim como, camundongos e sapos (CHENOWETH, 1949), uma vez que, a temperatura ambiental altera o metabolismo individual e a sensibilidade a essa substância (EASTLAND; BEASOM, 1986b). Por outro lado, ratos intoxicados experimentalmente com 5,0 mg/kg de MF, quando submetidos a temperatura ambiental de 23° e 17°C apresentaram comportamento oposto, já que a taxa de mortalidade aumenta de 3% para 47%, respectivamente (MISUSTOVÁ; NOVÁK; HOSEK, 1969). Segundo Buffa e Pasqualli-Ronchetti (1977), o variável grau de permeabilidade da membrana celular ao MF, bem como diferenças morfológicas e funcionais entre grupos celulares podem, de certa forma, justificar a diferença na toxidez da substância para as diversas espécies animais. Entretanto, Eisler (1995) considera que a variação na resposta individual ao MF pode ser atribuída à reduzida habilidade em converter o fluoroacetato em fluorocitrato.

**Tabela 3.** Dose oral letal média e progressão da intoxicação por MF em diferentes espécies animais

Espécie animal	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	Início dos sintomas após a administração do MF (h)	Intervalo de tempo entre a administração do MF e o óbito (h)
<b>► Mamíferos:</b>			
<b>• Herbívoros marsupiais</b>			
“Brushtail possum” ( <i>Trichosurus vulpecula</i> )*	0,47 – 0,79	1,0 – 19,8	5,0 – 97,0
Cangurus de Bennett ( <i>Macropus rufogriseus</i> )*	> 0,21	< 16,9 – 23,2	8,9 – 38,9
“Southern hairy-nosed wombat” ( <i>Lasiiorhinus latifrons</i> )	0,21	5,1 – 39,4	16,2 – 59,3
“Eastern grey kangaroo” ( <i>Macropus giganteus</i> )	~ 0,1 – 0,35	< 13,2 – 23,9	20,9 – 62,1
<b>• Herbívoros eutérios</b>			
Equinos ( <i>Equus caballus</i> )	1,0	~ 1,5 – 2,0	6,0 – 10,5
Ovinos ( <i>Ovis aries</i> )	0,5	6,2 – 37,6	9,6 – 61,6
Coelhos ( <i>Oryctolagus cuniculus</i> )*	0,34 – 0,5	1,1 – 10,1	3,0 – 44,3
Bovinos ( <i>Bos taurus</i> )	0,39	1,5 – 29,0	1,5 – 29,3
<b>• Onívoros/carnívoros marsupiais</b>			
“Northern quoll” ( <i>Dasyurus hallucatus</i> )	5,66	3,0 – 361,9	10,0 – 450,7
Diabo-da-tasmânia ( <i>Sarcophilus harrisi</i> )	4,24	0,3 – 1,6	2,6 – 22,3
“Eastern quoll” ( <i>Dasyurus viverrinus</i> )	3,73	0,2 – 2,24	< 2,0 – 63,2
“Stripe-faced dunnart” ( <i>Sminthopsis macroura</i> )	0,95	1,7 – 4,0	3,4 – 13,1
<b>• Onívoros/carnívoros eutérios</b>			
Porco selvagem ( <i>Sus scrofa</i> )*	1,0	1,9 – 47,3	2,8 – 80
Gatos ( <i>Felis catus</i> )*	0,40	1,0 – 5,6	20,7 – 21,0
Dingo ( <i>Canis lupus dingo</i> )*	0,11	4,8 – 14,6	5,3 – 10,8
Raposa-vermelha ( <i>Vulpes vulpes</i> )*	0,12	4,1	5,5
<b>► Roedores:</b>			
Camundongo ( <i>Mus musculus</i> )	8,33	1,3 – 2,8	2,2 – 68,3
“Grassland melomys” ( <i>Melomys burtoni</i> )	2,65	0,6 – 1,9	14,1 – 205,8
“Bush Rat” ( <i>Rattus fuscipes</i> )	1,13	0,6 – 5,1	0,7 – 24,8
Rato-preto ( <i>Rattus rattus</i> )*	0,76	0,8 – 27,8	2,4 – 36,5
<b>► Répteis e anfíbios:</b>			
“Blotched blue-tongued lizard” ( <i>Tiliqua nigrolutea</i> )	336,4	13,3 – 160,9	14,4 – 68,3
Dragão-barbudo ( <i>Pogona vitticeps</i> )	< 110	15,2	14,9 – 24,2
Sapo “spotted grass” ( <i>Limnodynastes tasmaniensis</i> )	~ 60	12,9 – 77,5	36,8 – 98,3
“Gould’s monitor” ( <i>Varanus gouldii</i> )	43,6	24,2 – 141,2	66,5 – 292,5
<b>► Aves:</b>			
Emu ( <i>Dromaius novaehollandae</i> )	~ 278	1,5 – 5,8	124
Cacatua-de-crista-amarela ( <i>Cacatus galerita</i> )	3,46	9,9 – 17,7	9,0 – 73,7
“Australian magpie” ( <i>Gymnorhina tibicen</i> )	9,93	3,6 – 10,7	9,0 – 73,7
Águia “wedge-tailed” ( <i>Aquila audax</i> )	9,49	1,0 – 60,0	8,0 – 158,5

Tabela adaptada de Sherley (2007) que foi baseada nos dados fornecidos por McIlroy (1981; 1982a; 1982b; 1983a; 1983b; 1984; 1985), Meldrum e Bignell (1957), Marks et al. (2000) e Robison (1970).

\* Espécies-alvo australianas.

O MF exerce efeito direto sobre o sistema efetor da termorregulação. O bloqueio específico do ciclo de Krebs, pelo fluorocitrato, provoca, secundariamente, uma redução na produção de calor e do metabolismo aeróbico com conseqüente hipotermia (MISUSTOVÁ NOVÁK; HOSEK, 1969). De fato, gatos (COLLICCHIO-ZUANAZE et al., 2006) e ratos (SIKULOVÁ; NOVÁK, 1970), experimentalmente intoxicados com MF frequentemente apresentam hipotermia. Por outro lado, cães manifestam inicialmente hipertermia, porém, tal controvérsia pode ser justificada pela aferição da temperatura durante os períodos de hiperexcitabilidade e convulsões tônico-clônicas (DE PAULA, 2000).

Em ratos, foi demonstrado experimentalmente que o acúmulo de citrato é mais acentuado no rim e fígado (SPENCER; LOWENSTEIN, 1967) e, em coelhos, no miocárdio e cérebro (HUANG; PANG; CHANG, 1980). Outros estudos verificaram que a concentração do citrato no rim aumenta progressivamente da região cortical para a medular (SIMONNET; GAUTHIER; PELLET, 1980) e que, a excreção do citrato acumulado no organismo está diretamente relacionada às condições metabólicas durante a intoxicação por MF (GROLLMAN, HARRISON; HARRISON, 1961). Segundo esses autores, em quadros de acidose e acidificação da urina há uma considerável diminuição da excreção do citrato.

Alguns autores acreditam que as convulsões observadas em intoxicações por MF decorrem do acúmulo de citrato associado à depleção de cálcio ionizado (BUFFA; PETERS, 1950), porém, outros autores rejeitam essa hipótese, uma vez que a administração de cálcio IV ou subaracnóideo não impede a ocorrência de crises convulsivas induzidas pelo MF (BOSAKOWSKI; LEVIN, 1986; HORNfeldt; LARSON, 1990).

Estudos acerca da toxicidade do MF sobre mitocôndrias do cérebro, coração e rim de ratos, mostraram que a taxa de oxidação de alguns substratos é muito reduzida em mitocôndrias isoladas desses tecidos (CORSI; GRANATA, 1967). Em gatos adultos, a intoxicação por MF provoca inibição dos neurônios inibitórios no córtex motor. No entanto, nesse caso, o MF atua de forma direta sobre o córtex cerebral, uma vez que a inativação prévia da saída de íons cloro nos neurônios motores causa inibição cortical pós-sináptica da geração do potencial de ação (RAABE, 1981). Convulsões induzidas pela hipoglicemia insulínica diferem daquelas provocadas por MF. Na primeira, ocorre redução da concentração de glicose para o SNC, uma vez que reduz a glicemia e, conseqüentemente, todas as formas de oxidação da glicose. Já a intoxicação por MF, causa o bloqueio específico do ciclo de Krebs e as convulsões são decorrentes do reduzido suprimento energético ao SNC (MARRAZZI; HOLLIDAY, 1981). Em coelhos, a convulsão e fibrilação ventricular iniciam-se, em geral, após um estímulo externo ou pela contenção dos animais; tal constatação, sugere que o aumento na liberação de catecolaminas durante a intoxicação pode exercer um fator desencadeador das alterações cardíacas nestes animais (HUANG; PANG; CHANG, 1980).

Foi verificado que o fluorocitrato também é metabólito cardiotoxíco do quimioterápico 5-fluorouracil (FOLB, 1988); segundo Lemaire (1992), essa cardiotoxicidade pode ser oriunda de impurezas presentes no medicamento. O mesmo autor detectou a presença do fluorocitrato na urina de seres humanos tratados com tal medicamento. Em sapos, a ação do fluorocitrato sobre o coração, caracteriza-se por efeito inotrópico positivo sem aumento da frequência cardíaca. Há também, acúmulo de citrato no miocárdio (BURANDE; GOYAL; VERMA, 1983).

Sherley (2007) sugere que a causa do efeito tóxico do MF seja provavelmente a associação entre a depleção de energia celular (PETERS, 1952; FANSHIER; GOTTWALD; KUN, 1964), o acúmulo de citrato nos tecidos e no sangue com conseqüente acidose metabólica (FOSS, 1948; PETERS, 1952) e outros distúrbios eletrolíticos resultantes, incluindo a hipocalcemia e hipocalemia (CHI et al., 1996).

### 2.1.6 Tolerância

Alguns herbívoros da Austrália ocidental têm desenvolvido naturalmente, uma elevada tolerância ao MF (McILROY, 1982a; TWIGG, 1994), devido à coexistência com plantas nativas australianas que contêm esse composto com princípio ativo e, que são consumidas por esses herbívoros, a milhares de anos (TWIGG; KING 1991; TWIGG, 1994; TWIGG et al., 1996a, 1996b; TWIGG; WRIGHT; POTTS, 1999). De fato, em estudos acerca dos riscos de intoxicação por MF em espécies nativas australianas não-alvo, constatou-se que os valores da LD<sub>50</sub> de diversas espécies de mamíferos da Austrália ocidental são substancialmente maiores do que aqueles verificados em populações da mesma espécie que habitam o leste da Austrália. As espécies estudadas incluíram o canguru-vermelho (*Macgalsia rufá*), o canguru-ocidental (*Macropus fuliginosus*), bem como ratos (*Rattus fuscipes*) e gambás (*Trichosurus vulpecula*) (OLIVER; KING; MEAD, 1977).

Da mesma forma, alguns répteis como o lagarto (*Tiliqua rugosa*), que coexistem na Austrália ocidental com plantas que contêm MF, tais como *Gastrolobium* e *Oxylobium* são muito menos sensíveis a intoxicação por esse composto, do que os lagartos da mesma espécie que habitam o sul da Austrália, onde tais plantas tóxicas não são encontradas (McILROY; KING; OLIVER, 1985; TWIGG et al., 1988; TWIGG; MEAD, 1990). Outros autores afirmam que certas espécies de aves, provavelmente, também desenvolveram tolerância ao MF devido à ingestão de plantas que contêm MF ou de insetos e outros organismos que se alimentam dessas plantas (McILROY, 1984).

Em águias, ratos, camundongos e macacos foi demonstrado que a administração de doses subletais de MF resulta no desenvolvimento de tolerância a subsequente ingestão de doses letais. Controversamente, em cães, cobaias, coelhos e patos selvagens, a administração de doses subletais repetidas ocasiona acúmulo de níveis letais de MF (ATZERT, 1971).

Segundo alguns autores, o desenvolvimento de tolerância ao MF é um fenômeno relacionado ao intervalo de tempo entre as administrações. Ratos que receberam doses de 0,5 mg/kg de MF, quatro a 24 horas antes de uma dose de 5,0 mg/kg, foram mais resistentes do que outros que não haviam recebido previamente o MF (ATZERT, 1971). Contudo, segundo Chenoweth (1949), em camundongos, ratos e macacos *Rhesus* o efeito protetor da exposição prévia, a doses gradualmente crescentes de MF, raramente persiste por mais de 48 horas. Entretanto, Kalmbach (1945) relata que ratos de laboratório podem adquirir tolerância ao MF através da ingestão de doses subletais por um período de 5-14 dias e, que a interrupção do tratamento por sete dias, causa a perda de tolerância adquirida. Por outro lado, alguns autores afirmam que ratos não desenvolvem tolerância significativa, após a ingestão de doses subletais de MF, embora os que sobrevivam possam desenvolver uma aversão a esse composto (GREEN 1946; PEACOCK, 1964).

Outros estudos realizados por Howard, Marsh e Palmateer (1973), com a finalidade de verificar se roedores são capazes de desenvolver resistência hereditária ao MF, confirmaram que ratos (*Rattus norvegicus*) têm predisposição ao desenvolvimento de considerável resistência genética ao MF. Neste estudo, verificaram-se que ao fim de cinco gerações, a LD<sub>50</sub> aproximada passou de 2,0 mg/kg para 3,5 mg/kg. Além disso, a porcentagem de sobrevivência dos ratos da quarta geração intoxicados com MF, por via oral, na dose de 5,0 e 6,0 mg/kg foi 3,75 e 4,75 vezes maior, respectivamente.

### 2.1.7 Desintoxicação

Durante muito tempo, a ligação entre átomos de carbono e flúor existente entre diversos compostos fluorados, incluindo o MF, foi considerada refratária a ataques biológicos. No entanto, estudos posteriores demonstraram que alguns destes compostos, inclusive o MF podem sofrer desfluoração *in vivo*. De fato, algumas pesquisas realizadas em ratos revelaram que o flúor é o metabólito principal da desintoxicação do MF (EGEKEZE; OEHME, 1979a). Achados similares foram descritos por Oliver, King e Mead (1977), que verificaram elevadas concentrações plasmáticas de flúor em cangurus, gambás e ratos após a administração de MF. Tais autores sugeriram que nesses animais, possivelmente, ocorria desintoxicação com provável desfluoração do MF ou de seus metabólitos. Alguns autores acreditam que todos os animais possuem, em maior ou menor grau, a habilidade de desfluoração do MF (EGEKEZE; OEHME, 1979a).

Gal, Drewes e Taylor (1961) verificaram que ratos são capazes de metabolizar o MF em metabólitos não-tóxicos, e podem excretar tanto o MF, quanto o fluorocitrato, seu metabólito tóxico. Nesse estudo, a desfluoração do MF foi demonstrada de forma convincente pela detecção de aproximadamente 2% de carbono previamente marcado ( $^{14}\text{CO}_2$ ) no ar expirado de ratos, quatro horas após a administração intraperitoneal de 10,63 mg/kg de fluoroacetato-2- $\text{C}^{14}$ . Adicionalmente, esses autores verificaram que 32% da radioatividade administrada aos ratos foi excretada pela urina em um período de quatro dias e, que apenas 3% desse valor, se apresentava na forma de fluorocitrato.

Outros estudos confirmaram a capacidade de desfluoração do MF *in vivo*, através de análises realizadas com eletrodo específico (SMITH; GARDNER; YUILE, 1977; EGEKEZE; OEHME, 1979b), contagem de [ $^{19}\text{F}$ ] (SYKES et al., 1987) ou por  $^{19}\text{F}$ -RMN (TECLE; CASIDA, 1989). Tais estudos demonstraram que após a administração do MF a ratos e camundongos há aumento da concentração de fluoreto inorgânico no plasma, fígado, rim (EGEKEZE; OEHME, 1979b) e urina (SMITH; GARDNER; YUILE, 1977; SYKES et al., 1987; TECLE; CASIDA, 1989).

Pesquisas subsequentes foram desenvolvidas com a finalidade de identificar o mecanismo envolvido na desintoxicação do MF. Kostyniak, Bosmann e Smith (1978) identificaram *in vitro* no citossol de hepatócitos de ratos um sistema capaz de desfluorar o MF, cuja atividade era inibida pelo maleato e estimulada pela glutathione. Posteriormente, foi confirmado *in vivo* o papel protetor da glutathione em ratos, uma vez que a redução nos níveis dessa substância no organismo, através da administração de 736 mg/kg de dietilmaleato resulta em significativa redução da  $\text{LD}_{50}$  do MF (35%) (KOSTYNIK, 1979). Soiefer e Kostyniak (1983; 1984) caracterizam na fração citossólica do fígado e rim de camundongos, uma enzima aniônica, que catalisa a desfluoração do MF, com liberação de fluoreto livre e, verificaram que a maior atividade dessa enzima ocorre no fígado. Essa reação possui necessidade específica de glutathione, que atua como co-substrato ou como um ativador. Tais autores purificaram essa enzima desalogenadora e concluíram que, embora compartilhem algumas propriedades, ela é distinta das conhecidas isoenzimas múltiplas catiônicas e aniônicas da glutathione-S-transferase, encontrada no citossol hepático de mamíferos.

### 2.1.8 Efeito acumulativo

O efeito acumulativo do MF é um fenômeno intimamente associado à amplitude do intervalo de tempo entre as administrações e a espécie em questão (CHENOWETH, 1949; ATZERT, 1971). De fato, a administração diária de 1/4 da  $\text{LD}_{50}$  do MF 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, verificaram-se também em ovinos que a administração de MF, por via IV, 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 sintomas leves (ANNISON et al., 1960). Rowley (1963) comprovou através de experimentação que repetidas doses subletais de MF também podem acumular e causar a morte de coelhos silvestres. Outros autores demonstraram que doses de 0,05 mg/kg/dia de MF administrado via fístula ruminal, provoca a morte de ovinos em até três semanas (JARRETT; PACKHAM, 1956).

Outro achado interessante se refere à espécie envolvida. Foi verificado que a administração de subdoses a algumas espécies animais como águias, ratos, camundongos e macacos resulta no desenvolvimento de tolerância. Por outro lado, em cães, cobaias, coelhos e patos selvagens, a administração de doses subletais repetidas ocasiona acúmulo de níveis letais de MF (ATZERT, 1971).

### **2.1.9 Intoxicação secundária**

Os riscos da intoxicação secundária em seres humanos (EASON et al., 1994) e em animais domésticos (EASON, 2002; O'HAGAN, 2004) e selvagens (GOONERATNE et al., 1995) têm sido estudado por diversos pesquisadores, principalmente, em países como Austrália e Nova Zelândia, que fazem uso do MF, em níveis de até 200 kg e 4 toneladas por ano respectivamente, no controle populacional de algumas espécies de animais (AUSTRALIA, 2003).

Na literatura são descritos casos de intoxicação secundária à ingestão de carcaças contaminadas e de resíduos tóxicos presentes no vômito de animais intoxicados pelo MF (HEYWARD; NORBURY, 1998; GOONERATNE et al., 1995; EASON, 2002). Sabe-se que tal ocorrência depende da quantidade de isca consumida pela espécie primária, bem como das partes ingeridas do animal morto e da sensibilidade da espécie consumidora (OSWEILER et al., 1985).

Raposas, dingos, cães e gatos parecem ser mais susceptíveis a intoxicação secundária do que aves e mamíferos nativos australianos, especialmente, ao consumo da musculatura de coelhos intoxicados com cerca de 5,0 mg de MF (McILROY, 1992). De fato, segundo Green (1946) cães e gatos, por serem muito sensíveis a esse composto, podem morrer após o consumo de roedores intoxicados ou após a ingestão de carcaças, iscas ou água contaminada por essa substância. Alguns autores afirmam que nestas duas espécies, a intoxicação secundária à ingestão de roedores intoxicados por MF é frequente (EISLER, 1995). Outros autores sugeriram que a intoxicação secundária ao consumo desses roedores também seria possível em raposas (*Vulpes vulpes*), porcos e carnívoros selvagens (PEACOCK, 1964; SCHITOSKEY, 1975), o que foi comprovado anos depois, com as descrições de óbitos de suínos (CASPER; McMAHON; PAULSON, 1985) e furões (HUDSON; TUCKER; HAEGELE, 1984) após consumirem roedores intoxicados por MF.

Na Austrália, sete cães da raça Maremma morreram intoxicados por MF, possivelmente, de forma secundária. Neste surto, a intoxicação foi confirmada através de análises toxicológicas, apesar da fonte de exposição ao MF não ter sido encontrada. Acredita-se que a morte dos cães seja resultado do consumo da carcaça de um animal que morreu após ingerir o MF em uma propriedade, localizada a 25 km de distância, onde esse composto tinha sido utilizado. O autor considera possível que uma ave de grande porte tenha transportado a carcaça ou parte dela, a essa distância, o que possibilitou a intoxicação dos cães. De fato, no vômito de um cão foram observados fragmentos de pele e pêlos, material este considerado ser a fonte da intoxicação

secundária (O'HAGAN, 2004). Hegdal et al. (1986), relataram que diversos cães e gatos foram encontrados mortos a 450 metros de uma área onde o MF era empregado, e que embora não tenham sido detectados resíduos de MF em análises químicas, os sinais clínicos de intoxicação por MF eram evidentes. Alguns autores consideram que os cães são particularmente vulneráveis à intoxicação secundária por MF porque, além de serem muito sensíveis a esse composto, muitas vezes, vivem dentro de propriedades ou em áreas próximas de onde são realizadas as campanhas de controle populacional de espécies-alvo australianas (GOH et al., 2005).

Eason et al. (1994) avaliaram os riscos do consumo de carnes ovina e caprina oriundas de regiões que fazem uso do MF no controle de predadores domésticos, bem como a possibilidade de intoxicação secundária do homem, através da análise da presença de resíduos de MF no sangue, músculo, fígado e rim. Nesse estudo, verificou-se que o MF apresenta meia-vida plasmática de 10,8 horas em ovinos e 5,4 horas nos caprinos e que nos demais órgãos, as concentrações são inferiores às do plasma e persistem em doses baixas por até 96 horas. Apesar disso, esses autores consideram ser pouco provável a intoxicação de humanos, secundária ao consumo da carne desses animais (EASON et al., 1994). Recentemente, Collicchio-Zuanaze (2006) verificou em gatos experimentalmente intoxicados por MF, por via oral, na dose de 0,45 mg/kg que 95,19% do MF, em média, é metabolizado até seis horas após a administração da substância. Neste período, 4,81% de resíduo do MF não metabolizado foram detectados no soro desses animais. Estudos experimentais adicionais demonstraram que a persistência de resíduos do MF em coelhos é dose dependente e que a concentração de MF nos músculos esqueléticos, rim e fígado de coelhos também é significativamente menor do que no plasma (GOONERATNE et al., 1995). Tais autores verificaram ainda que a concentração e retenção do MF nos tecidos diminuem substancialmente, ao longo do tempo, após a putrefação das carcaças. Contudo, esses autores acreditam que a intoxicação secundária de cães é possível devido à sua extrema sensibilidade ao tóxico, mas pouco provável em aves, que são mais resistentes a essa substância (GOONERATNE et al., 1994).

Outros estudos investigaram os riscos da intoxicação secundária de espécies não-alvo através da ingestão de carcaças de coelhos que receberam doses letais e sub-letais de MF (GOONERATNE et al., 1995). Nesse estudo, verificou-se que após os coelhos ingerirem uma dose subletal de MF, a eliminação total desse composto dos tecidos ocorre dentro de aproximadamente 6 horas, o que representa um risco limitado às espécies não-alvo. No entanto, a concentração plasmática do MF em coelhos que receberam uma dose letal, pode ser significativamente maior que a LD<sub>50</sub> para os cães. É possível também, que iscas contendo doses letais de MF possam permanecer parcialmente não digeridas no estômago de animais após a morte. Devido a este fato, os autores desse estudo, sugerem que a intoxicação secundária ao consumo de um animal recentemente intoxicado pode ter risco significativo, especialmente, para carnívoros não-avos, como o cão (GOONERATNE et al., 1995). De fato, foi demonstrado em visons (*Mustela vison*) que o fornecimento de carcaças de coelhos intoxicados por MF, após a remoção do trato gastrintestinal, como constituintes de 40% da dieta total não resulta na morte desses animais (AULERICH et al., 1987). Esses autores sugerem que a toxicidade secundária do MF é devido, principalmente, ao consumo do composto não metabolizado no intestino das espécies intoxicadas.

Casper et al. (1986) verificaram a morte de coiotes após a ingestão de esquilos intoxicados com 3,0-6,0 mg de MF, o equivalente a 0,24-0,63 mg/kg de peso corpóreo dos coiotes. Por outro lado, foi demonstrado também em coiotes que o consumo de um esquilo intoxicado com MF por dia, durante 5 dias ou uma dose total estimada de 0,12-0,27 mg/kg de peso corporal, geralmente, não resulta na morte do animal (MARSH; SCHIMIDT; HOWARD,



1987). Esses autores sugerem haver baixo risco de intoxicação secundária ao consumo diário de pequenas doses de MF. Da mesma forma, nenhuma evidência de intoxicação secundária foi observada em coiotes, cães domésticos, gambás (*Mephitis mephitis*) e pegas que receberam experimentalmente por 14 a 35 dias carcaças e vísceras de coiotes que morreram após a ingestão de 5,0-15,0 mg de MF (BURNS; CONNOLLY; OKUNO, 1986). Neste estudo, os resíduos máximos de MF nos tecidos dos coiotes mortos foram 0,66 mg/kg no músculo, 0,79 mg/kg no intestino delgado e 0,76 mg/kg no estômago. Outros estudos experimentais, também não conseguiram reproduzir em “virginia opossums” (*Didelphis virginiana*) (EASTLAND; BEASOM 1986a), cangambá (*Mephitis mephitis*) (EASTLAND; BEASOM 1986a; BURNS; TIETJIN; CONNOLLY, 1991), guaxinins (EASTLAND; BEASOM, 1986a; HEGDAL et al., 1986) ou texugos (*Taxidea taxus*) (HEGDAL et al., 1986) a intoxicação secundária ao consumo de tecidos de coiotes intoxicados por MF. De fato, alguns autores afirmam que os riscos da intoxicação secundária de animais que ingerem carcaças de cães da pradaria (*Cynomys*) intoxicados por MF é mínima, uma vez que as concentrações do MF nos tecidos desses animais são inferiores a 0,1 mg/kg (HUGGHINS; CASPER; WARD, 1988).

Não existem dados específicos sobre a real frequência das intoxicações acidentais que ocorrem na Austrália, no entanto, um resumo do número de casos e surtos notificados a *Animal Health Laboratory Network in New Zealand* é apresentado na Tabela 4.

**Tabela 4.** Intoxicações acidentais por MF notificadas na Nova Zelândia entre 1980 e 1992

Ano	Espécie animal			
	Cães	Bovinos <sup>a</sup>	Ovinos	Outros <sup>b</sup>
1980	3	0	0	0
1981	6	0	1	1
1982	11	3	4	0
1983	6	1	2	0
1984	7	5	4	2
1985	15	8	0	1
1986	8	1	1	3
1987	9	4	2	2
1988	10	4	6	6
1989	8	3	9	0
1990	4	2	9	0
1991	16	3	5	1
1992	17	12	3	5
<b>Total</b>	<b>120</b>	<b>46</b>	<b>46</b>	<b>21</b>

Fonte: Orr e Bentley (1994).

<sup>a</sup>Se refere ao número de surtos.

<sup>b</sup>Equinos, suínos, caprinos, cervos, gatos e aves.

A maioria das intoxicações secundárias ocorre quando os animais têm acesso a áreas onde o MF é empregado ou quando os animais retornam para essas regiões após 6 a 8 semanas (ORR; BENTLEY, 1994). Contudo, no intuito de ser evitada a intoxicação secundária em regiões onde o MF é utilizado no controle populacional de espécies alvo, recomenda-se que todos os animais domésticos sejam confinados ou removidos da área onde o MF será empregado (PEACOCK, 1964). Após seu uso, todas as iscas remanescentes, bem como as carcaças dos animais intoxicados devem ser coletadas e incineradas (GREEN, 1946), além disso, nenhum animal intoxicado por MF deve ser consumido por seres humanos ou animais (CONNOLLY, 1989; 1993).

### **2.1.10 Quadro clínico-patológico da intoxicação por MF**

Uma característica toxicológica peculiar do MF é a extrema variação da sensibilidade e dos sinais clínicos manifestados pelas diversas espécies de animais quando intoxicadas por esse composto. De fato, poucos são os compostos químicos conhecidos capazes de provocar variáveis quadros clínico-patológicos em diferentes espécies animais como o observado nas intoxicações por MF (EGEKEZE; OEHME, 1979a). Chenoweth e Gilman (1946) constataram, através de uma série de experimentos, que os sinais clínicos e a causa da morte em animais intoxicados por MF variam de acordo com a espécie. Com base nessas constatações, elaboraram um sistema de classificação em categorias, que permitiu agrupar as diversas espécies animais em função do efeito provocado pelo MF. Na classe I, a ação principal do MF ocorre sobre o coração e a morte sobrevém, em geral, por fibrilação ventricular. Na classe II, tanto o coração quanto o SNC; são afetados e a morte resulta, geralmente, de falha respiratória durante episódios convulsivos e, ocasionalmente, devido à fibrilação ventricular. Na classe III, a ação do MF é mais marcada sobre o SNC, há predomínio de convulsões epileptiformes e a morte está associada à parada respiratória. Na classe IV, estão incluídos os animais que exibem uma resposta atípica, caracterizada por bradicardia e fraqueza.

Outros autores sugerem que, em geral, herbívoros intoxicados por essa substância apresentam comprometimento cardíaco (classe I), carnívoros manifestam alterações marcadas sobre o SNC e o óbito sobrevém pela depressão respiratória (classe III), já os onívoros manifestam tanto alterações cardíacas quanto nervosas (classe II) (EGEKEZE; OEHME, 1979a). Por outro lado, Sherley (2004) afirma ser falha a afirmação de que os vertebrados possam ser agrupados em quatro categorias, com base nos sinais clínicos manifestados durante a intoxicação por MF, e que, apesar de certas semelhanças, o comprometimento neurológico é muito mais comum do que o anteriormente inferido.

#### **2.1.10.1 Herbívoros**

Em **coelhos, caprinos e equinos** a morte sobrevém pelo efeito mais intenso no MF sobre o coração, mais especificamente por fibrilação ventricular e por isso estão incluídos na **classe I** (CHENOWETH; GILMAN, 1946). Os **coelhos** manifestam distúrbios motores caracterizados, principalmente, por extensão dos membros anteriores e tremores musculares (CHENOWETH; GILMAN, 1946); observam-se ainda, fraqueza muscular, ataxia, hipersensibilidade sonora (FOSS, 1948; MELDRUM; BIGNELL, 1957; McILROY, 1982a), depressão, letargia, inquietação e angústia respiratória (QUIN; CLARK, 1947; FOSS, 1948; MELDRUM; BIGNELL, 1957; NWUDE; PARSONS; ADAUDI, 1977; McILROY, 1982a). Outros sinais clínicos descritos incluem alteração comportamental, hipotermia, diminuição da frequência

cardíaca e fibrilação ventricular (HUANG; PANG; CH'ANG, 1980), geralmente seguido de morte (FOSS, 1948; HUANG; PANG; CH'ANG, 1980).

Os **equinos** podem manifestar, além da fibrilação ventricular (CHENOWETH; GILMAN, 1946), evidências de colapso circulatório incluindo fraqueza, taquipnéia, hipotermia (QUIN; CLARK, 1947; FOSS, 1948;), tremores musculares, sudorese profusa (EGEKEZE; OEHME, 1979a) e pulso acelerado com evolução a óbito por insuficiência respiratória (QUIN; CLARK, 1947; FOSS, 1948;).

Em **bovinos** intoxicados experimentalmente com MF, o achado mais marcante foi à ausência de sinais clínicos detectáveis até minutos antes do óbito. De fato, segundo o autor, os animais aparentemente sadios, subitamente manifestam sintomas durante 3 a 20 minutos antes da morte, que caracterizam-se por micção frequente, andar cambaleante, queda, espasmos musculares seguidos por movimentos de pedalagem e morte (ROBISON, 1970). Tal quadro clínico foi considerado, pelo autor, extremamente consistente. Schnautz (1949) descreveu um surto de intoxicação acidental por MF em quatro bovinos, que ocorreu em uma propriedade que havia utilizado essa substância no controle de roedores. Em geral, os bovinos intoxicados não manifestaram sinais clínicos prévios, e de súbito mostraram alterações que se iniciaram por dificuldade locomotora, espasmos clônicos da musculatura do pescoço e da cabeça, micção frequente, mugidos, andar cambaleante, queda, convulsões com duração em torno de dois minutos e intensos movimentos de pedalagem seguido de morte. Recentemente, Nogueira (2009) demonstrou que bovinos intoxicados com doses de 0,5 e 1,0 mg/kg de MF, por via oral, manifestam, além dos sintomas acima descritos, taquicardia (FC 128 a 162), jugular repleta com pulso venoso positivo, veias da face ingurgitadas, respiração abdominal, perda de equilíbrio, sialorréia, nistagmo, tremores musculares, respiração ofegante e opistótono.

Segundo Joon et al. (1982), **bovinos e caprinos** experimentalmente intoxicados por MF manifestam depressão, dispnéia, ranger de dentes, vômito, mugido (bovinos) e balidos (caprinos), opistótono e morte. Adicionalmente, **caprinos** podem apresentar fraqueza, taquipnéia (FOSS, 1948) e depressão seguida por agitação (NWUDE; PARSONS; ADAUDI, 1977).

Os achados macroscópicos em bovinos consistiram de aurículas, veias cava cranial, jugulares, ázigos direita, costo cervical, subclávia direita e pulmonares leve a moderadamente ingurgitadas, raras petéquias no pulmão, leve a acentuado edema pulmonar, avermelhamento da mucosa do abomaso, raras petéquias na mucosa da vesícula biliar e acentuação do padrão lobular do fígado, esplenomegalia, congestão hepática e hidropericárdio. Havia ainda leve a moderado edema da subserosa nos locais de fixação da vesícula biliar no fígado, além de leve edema em torno do intestino delgado (duodeno) em contato com pâncreas (NOGUEIRA, 2009). Outros autores descrevem ainda, sangue com coloração escura, conteúdo espumoso na traquéia, hiperemia e hemorragia na traquéia e pulmões, rins hiperêmicos e tumefeitos, hemorragia subepicárdica, hiperemia do abomaso, intestino e cérebro (JOON et al., 1982).

O exame histopatológico evidenciou, no rim dos bovinos leve a acentuada degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contorcidos distais e, por vezes, túbulos retos, associada à cariopícnose; adicionalmente, observou-se leve a moderada congestão. No fígado observaram-se edema do espaço de Disse, leve a moderada congestão, necrose de coagulação paracentral ou necrose individual aleatória, vacuolização de hepatócitos na região centrolobular, leve tumefação difusa dos hepatócitos, leve a moderado infiltrado inflamatório linfoplasmocitário e macrófágico periportal, proliferação das vias biliares, leucocitoestase e corpúsculos de choque nos sinusóides hepáticos. No coração observaram-se focos de leve infiltrado inflamatório linfoplasmocitário e leve congestão. Havia ainda leve a moderado edema pulmonar (NOGUEIRA, 2009). Outras alterações histológicas descritas incluem, hemorragia

pulmonar, necrose do epitélio tubular e hemorragia intersticial renais, necrose coagulativa focal do miocárdio, hemorragia no pâncreas e baço, dilatação do espaço perivascular e hiperemia no cérebro, necrose com descamação do epitélio do abomaso e intestino delgado (JOON et al., 1982).

Os sinais clínicos observados em **ovinos** incluem ansiedade, ranger de dentes, agitação, hiperatividade (SCHULTZ et al., 1982), alterações posturais (“sentado na garupa”) (JENSEN; TOBISKA; WARD, 1948), diminuição dos movimentos ruminais, incontinência urinária (SCHULTZ et al., 1982), fraqueza, taquicardia, arritmia, pulso fraco (JENSEN; TOBISKA; WARD, 1948; SCHULTZ et al., 1982), taquipnéia, dispnéia (SCHULTZ et al., 1982), espasmos musculares (JENSEN; TOBISKA; WARD, 1948; ANNISON et al., 1960; SCHULTZ et al., 1982), convulsões tetânicas, hipersensibilidade a estímulos nervosos e movimentos de pedalagem (SCHULTZ et al., 1982), caem ao solo, convulsão e morte (JENSEN; TOBISKA; WARD, 1948; ANNISON et al., 1960). Observaram-se ainda períodos de excitação, em que o animal repentinamente começa a correr e a colidir contra obstáculos (JENSEN; TOBISKA; WARD, 1948; SCHULTZ et al., 1982).

À necropsia observaram-se congestão venosa (SCHULTZ et al., 1982) e pulmonar (JENSEN; TOBISKA; WARD, 1948; SCHULTZ et al., 1982), edema pulmonar, hidropericárdio, hidrotórax, hidroperitônio (SCHULTZ et al., 1982), hemorragias no epicárdio (JENSEN; TOBISKA; WARD, 1948; SCHULTZ et al., 1982) e endocárdio e palidez miocárdica (SCHULTZ et al., 1982).

Ao exame histológico verificaram-se lesões caracterizadas por degeneração e necrose individual ou de pequenos grupos de fibras no miocárdio e degeneração no hipocampo e núcleos do trato solitário no cérebro. Verificaram-se adicionalmente, edema cerebral e infiltração linfocítica no espaço de Virchow-Robin (SCHULTZ et al., 1982). Outros autores não observaram alterações histológicas significativas (JENSEN; TOBISKA; WARD, 1948).

**Gambás** (*Trichosurus vulpecula*) experimentalmente intoxicados por MF apresentaram letargia, respiração ruidosa, alteração postural, vocalizações, hipersensibilidade sonora, ataxia, convulsões e espasmos associados à ejaculação. **Outros marsupiais** herbívoros manifestaram anorexia, fraqueza, letargia, apatia, alteração postural, angústia, dispnéia, ataxia, convulsões e movimentos de pedalagem (McILROY, 1982a).

#### 2.1.10.2 Onívoros

Existem na literatura poucos dados acerca do quadro clínico e, principalmente, patológico da intoxicação experimental por MF em onívoros. **Suínos** e **macacos** *Rhesus* (*Macaca mulatta*), intoxicados por MF apresentam sintomas cardíacos e neurológicos e, portanto, estão agrupados na **classe II**. De fato, o óbito sobrevém por fibrilação ventricular ou insuficiência respiratória.

Em **suínos**, verifica-se dificuldade locomotora, depressão respiratória, excitabilidade, tremores e fibrilação ventricular, seguida de convulsões miotônicas de origem nervosa (CHENOWETH; GILMAN, 1946). **Porcos selvagens** manifestam letargia, vômitos, dispnéia, convulsões e paralisia parcial (McILROY, 1983a).

O quadro clínico apresentado por **macacos** *Rhesus* caracteriza-se por espasmos da musculatura facial, nistagmo, sialorréia, seguida de convulsões tônicas e eventualmente fibrilação ventricular (CHENOWETH; GILMAN, 1946). Outros autores descrevem ainda, apatia, vômitos midríase, movimentos de rotação com a cabeça e tremores (FOSS, 1948).

“Bandicoots” (membros da família Peramelidae) e “Striped skunks” (*Mephitis mephitis*) exibem sintomas cardíacos e neurológicos e, também estão incluídos na **classe II**. “Bandicoots”

apresentam depressão, bradipnéia, vômitos, hipersensibilidade a estímulos, tremores e convulsões (McILROY, 1983b). Já em “Striped skunks” (*Mephitis mephitis*), observam-se perda do controle sobre os musculatura esquelética, vocalização e convulsões (EASTLAND; BEASOM, 1987).

### 2.1.10.3 Carnívoros

Em **gatos**, o MF exerce efeito sobre o coração e SNC, portanto, estão agrupados na **classe II** (CHENOWETH; GILMAN, 1946). Os sinais clínicos incluem sialorréia, hiperexcitabilidade, vômitos, midríase, taquipnéia e convulsões tônico-clônicas (CHENOWETH; GILMAN, 1946; FOSS, 1948; COLLICCHIO-ZUANAZE et al., 2006); o óbito resulta, geralmente, de falha respiratória e, ocasionalmente, devido à fibrilação ventricular (CHENOWETH; GILMAN, 1946). Também são descritos, incontinência, ataxia e paralisia parcial (FOSS, 1948), miados frequentes, hipotermia (GAMMIE, 1980; COLLICCHIO-ZUANAZE et al., 2006), nistagmo (COLLICCHIO-ZUANAZE et al., 2006), bradicardia, tremores musculares, reflexos exagerados e hiperestesia à luz e ao toque (GAMMIE, 1980).

À necropsia verificaram-se hemorragia, edema, equimoses, congestão e enfisema pulmonares; dilatação cardíaca direita, petéquias e sufusões no endocárdio e pericárdio; efusões pleural e pericárdica; congestão e moderada degeneração hepática; gastroenterite catarral; efusão peritoneal; congestão e degeneração renais cortico-medular; sufusões e equimoses vesicais; congestão e edema cerebrais (COLLICCHIO-ZUANAZE, 2006).

O exame histopatológico revelou edema, congestão, hemorragia, necrose multifocal e infiltrado inflamatório focal por polimorfonucleares no miocárdio; edema, congestão e hemorragia acentuadas, bem como, discreto infiltrado inflamatório mononuclear e/ou polimorfonucleares nos pulmões. No fígado, verificaram-se congestão, degeneração hidrópica e gordurosa, além do infiltrado inflamatório mononuclear; congestão e hemorragias difusas nos rins, bem como, degeneração e necrose tubular e, por vezes, glomerular, além de infiltrado inflamatório mononuclear. Adicionalmente, havia edema e congestão das substâncias branca e cinzenta, focos hemorrágicos difusos, tumefação celular, cromatólise, gliose, satelitose, neuronofagia e no baço, observou-se retração esplênica com predominante diminuição da polpa vermelha (COLLICCHIO-ZUANAZE, 2006).

Em **cães** intoxicados por MF as alterações neurológicas são predominantes (**classe III**) (CHENOWETH; GILMAN, 1946). Cães intoxicados experimentalmente exibem vômitos, latidos excessivos (CHENOWETH; GILMAN, 1946; CHENOWETH; ST. JOHN, 1947; FOSS, 1948; HARRIS, 1975; BUCH; OSWEILER; VANGELDER, 1976), hiperexcitabilidade, sialorréia (CHENOWETH; GILMAN, 1946; FOSS, 1948; HARRIS, 1975), espasmos da musculatura facial, nistagmo (CHENOWETH; GILMAN, 1946), convulsões tônicas (CHENOWETH; GILMAN, 1946; CHENOWETH; ST. JOHN, 1947; FOSS, 1948; HARRIS, 1975), movimentos de pedalagem (CHENOWETH; GILMAN, 1946; FOSS, 1948; HARRIS, 1975) e óbito por falha respiratória (CHENOWETH; GILMAN, 1946; CHENOWETH; ST. JOHN, 1947). Também são descritas, agitação, incontinência urinária, midríase e convulsões clônicas (FOSS, 1948; HARRIS, 1975). Há um relato na literatura, acerca da ingestão acidental do MF em cães, em uma propriedade na Austrália, que fez uso deste composto no controle de predadores domésticos.

As alterações macroscópicas incluem palidez do trato gastrointestinal (O’HAGAN, 2004), congestão hepática, petéquias no endocárdio e edema pulmonar (FOSS, 1948).

O exame histológico revela congestão e hemorragia renal e pancreática, bem como, congestão e degeneração gordurosa no fígado (O’HAGAN, 2004). Porém, em outro estudo,

verificaram-se intensa vacuolização cerebral em cães intoxicados cronicamente com doses diárias de 0,03 mg/kg por via oral durante 3 meses (YAMASHITA; YADA; ARIYOSHI, 2004).

O quadro tóxico observado em **raposas** intoxicadas com MF é semelhante àquele verificado em cães. Clinicamente manifestam hiperatividade, espasmos tetânicos, convulsões clônicas e movimentos de pedalagem (MARKS et al., 2000). Estudos relacionados à toxicidade do MF para diversos **marsupiais carnívoros** australianos verificaram sinais clínicos variados incluindo vômitos, depressão, taquipnéia e respiração superficial, tremores, hiperatividade, vocalizações incomuns, sialorréia, espasmos da musculatura facial, nistagmo, ataxia, hipersensibilidade aos estímulos, midríase, convulsões tetânicas e clônicas, paralisia parcial, movimentos de pedalagem e morte (McILROY, 1981). Os achados macro e microscópicos nessas espécies não são descritos.

#### 2.1.10.4 Roedores

Chenoweth e Gilman (1946) estudaram os efeitos do MF sobre **cobaios** (*Cavia porcellus*), **ratos e hamsters**. Esses autores verificaram que **cobaios** apresentam alterações nervosas semelhantes àquelas descritas em cães e, desta forma, são incluídos na **classe III**. De fato, observam-se episódios convulsivos longos, hipersensibilidade a estímulos mecânicos e o óbito resulta de depressão respiratória (CHENOWETH; GILMAN, 1946). Outros autores descreveram ainda dispnéia, apreensão, hiperexcitabilidade e convulsões tônicas (QUIN; CLARK, 1947; FOSS, 1948).

**Ratos e hamsters** manifestam sinais considerados por Chenoweth e Gilman (1946) como atípicos (**classe IV**), pois raramente apresentam fibrilação ventricular e a morte ocorre de forma aguda por falha respiratória, além disso, os animais que sobrevivem à intoxicação apresentam fraqueza, ataxia e severa bradicardia. Entretanto, esses autores também descrevem sintomas iniciais caracterizados por tremores, alteração postural, hiperexcitabilidade e convulsões tônicas provocadas por estímulos mecânicos. Foss (1948) e Egekeze e Oehme (1979a) relatam que repetidas convulsões são comuns em **ratos**, porém Chenoweth e Gilman (1946) descreveram ser rara sua ocorrência. Segundo Egekeze e Oehme (1979a) **ratos** Sprague-Dawley intoxicados por MF, em geral, não manifestam sinais clínicos perceptíveis até minutos antes do início das convulsões. Outros autores descrevem ainda prostração, tremores de cabeça, pelos arrepiados (CUNHA, 2008), depressão, alterações posturais sugestivas de dor abdominal, vocalizações atípicas, dispnéia, espasmos da musculatura abdominal, midríase (FOSS, 1948; HAYES; SHORT; GIBSON, 1973; EGEKEZE; OEHME, 1979a), convulsões clônicas (FOSS, 1948; HAYES; SHORT; GIBSON, 1973; EGEKEZE; OEHME, 1979a; CUNHA, 2008) e tônico-clônicas, decúbito e movimentos de pedalagem.

A necropsia revelou congestão cerebral e hepática.

Ao exame histológico verificaram-se congestão, edema e hemorragia cerebral, em especial no cerebelo, córtex motor, terceiro e quarto ventrículos, núcleos da base e tronco encefálico. No coração havia múltiplos focos hemorrágicos; no fígado, moderada congestão e degeneração vacuolar microgoticular centrolobular e, no córtex renal, observou-se nefrose (CUNHA, 2008). Outros autores descrevem ainda, severa hipoespermia epididimal e degeneração dos túbulos seminíferos (EASON; TURK, 2002).

Em **camundongos** (*Mus musculus*) intoxicados por MF os sinais clínicos incluem letargia, apreensão, hiperexcitação, espasmos tetânicos e dispnéia (QUIN; CLARK, 1947; FOSS, 1948). Outros autores descrevem ainda, prostração e convulsões (PEREIRA; PEREIRA, 2005). Já os **cães da pradaria** (*Cynomys ludovicianus*) apresentam taquipnéia, hiperatividade e intensas

convulsões (HUGGHINS; CASPER; WARD, 1988). Alguns **roedores nativos da Austrália** exibem depressão, alteração postural, hipotermia, hipersensibilidade, vocalizações atípicas, ataxia, tremores, convulsões tônicas com movimentos de pedalagem, ejaculação e paralisia parcial (McILROY, 1982a; 1982b).

#### 2.1.10.5 Répteis e anfíbios

Em **sapos**, a intoxicação por MF induz sinais neurológicos (**classe II**), caracterizados por convulsões e paralisia (CHENOWETH; GILMAN, 1946). No entanto, outros autores relatam ainda, efeito inotrópico positivo, sem aumento da frequência cardíaca (BURANDE; GOYAL; VERMA, 1983). **Répteis e anfíbios nativos da Austrália** manifestam clinicamente letargia, sialorréia, espasmos musculares, convulsões e movimentos de pedalagem (McILROY, 1985).

#### 2.1.10.6 Aves

**Galinhas** intoxicadas por MF apresentam convulsões persistentes e o óbito sobrevém por fibrilação ventricular (CHENOWETH; GILMAN, 1946); no entanto, Quin e Clark (1947) não evidenciaram sinais clínicos prévios à morte. Em intoxicações experimentais, **pássaros** (*Sturnus vulgaris*) (BALCOMB; BOWEN; WILLIAMSON, 1983) e diversas **aves nativas da Austrália e Nova Zelândia** (McILROY, 1984; McINTOSH et al., 1966) apresentaram depressão, prostração, vômitos, alteração postural, vocalizações incomuns, tremores, sialorréia, dispnéia, hipersensibilidade à estímulos, ataxia, perda de equilíbrio, hiperatividade, convulsões com movimentos de pedalagem, convulsões tetânicas, opistótono e paralisia parcial.

#### 2.1.10.7 Animais selvagens em cativeiro

Entre 24 de janeiro e nove de março de 2004, cerca de 130 animais morreram no Zoológico de São Paulo. Dentre esses, 73 animais foram comprovadamente intoxicados por MF de forma criminosa. Os animais intoxicados e mortos por essa substância, segundo a perícia, foram três **chimpanzés**, três **antas**, cinco **dromedários**, um **elefante**, um **bisão**, um **orangotango**, um **macaco-de-cheiro**, três **tamanduás mirins**, um **sagui-preto-de-mão-amarela**, dois **macacos cairaras**, sete **micos-leões-dourados**, um **mico-de-cheiro**, um **macaco-da-noite** e 43 **porcos-espinhos** (ORTIS, 2005).

Parte desses animais intoxicados foram encontrados mortos em seus recintos, sem que tenham sido observados sinais clínicos prévios. Em alguns casos observaram-se, principalmente, quadros de asfixia e convulsões seguidos de óbito.

À necropsia, verificaram-se, em geral, achados semelhantes caracterizados por edema pulmonar, lesões cardíacas, hepáticas e pulmonares [sic]. Observou-se ainda congestão cerebral e, em uma das antas, havia necrose cardíaca (ORTIS, 2005).

#### 2.1.10.8 Seres humanos

**No homem**, a intoxicação por MF produz sinais clínicos cardíacos e nervosos e, desta forma, estão inclusos na **classe II** (GAJDUSEK; LUTHER, 1950). Na literatura há relatos de intoxicações acidentais (McTAGGART, 1970; REIGART; BRUEGGEMAN; KEIL, 1975) e propositais, como tentativas de suicídio (CHI; LIN; CHEN, 1999).

Os primeiros sinais clínicos, comumente observados na são caracterizados por manifestações gastrintestinais como vômito e diarreia, acompanhados de dor abdominal, alterações respiratórias, agitação e convulsões (CHI et al., 1996). Outros sinais incluem, ansiedade, irritabilidade, agitação, hiperatividade, taquicardia, confusão, dores de cabeça e musculares, náuseas, desconforto respiratório, hiperexcitabilidade, hiperestesia, tremores musculares, espasmos tetânicos, arritmia, convulsões epileptiformes e tônico-clônicas (GAJDUSEK; LUTHER, 1950; BROCKMAN; McDOWELL; LEEDS, 1955; McTAGGART, 1970; REIGART; BRUEGGEMAN; KEIL, 1975; CHUNG, 1984; CHI; LIN; CHEN, 1999; ROBINSON et al., 2002), além de insuficiência renal aguda oligúrica ou não oligúrica (CHUNG, 1984).

Estudos eletrocardiográficos revelam alterações inespecíficas de segmento ST e anormalidades na onda T. As alterações eletrolíticas mais comuns no homem, nesses casos, são hipocalcemia e hipocalemia (CHI et al., 1996).

Em um caso de intoxicação aguda por MF, na tentativa de suicídio de uma adolescente observaram-se náuseas, vômitos, dor abdominal, convulsões, coma por 18 meses após a intoxicação e a permanência de alterações neurológicas como disfunções cerebelares, distúrbios de memória e comportamento depressivo. De fato, durante o acompanhamento clínico da paciente, através de uma série de tomografias computadorizadas, verificaram-se atrofia cerebral difusa, dilatações da cisterna basal, bem como dos ventrículos laterais e do terceiro ventrículo. Essas alterações foram atribuídas ao longo período de anóxia cerebral ocorrido durante a fase aguda da intoxicação (TRABES; RASON; AVRAHAMI, 1983). Peters, Spencer e Bidstrup (1981) relataram um caso de intoxicação subaguda ocupacional em um homem, que apresentou sinais terminais caracterizados por convulsões e arritmias ventriculares. Durante a necropsia, observaram-se congestão pulmonar, hepática e renal. O exame microscópico revelou miocardite intersticial focal e congestão dos pulmões, fígado e rins.

### **2.1.11 Diagnóstico da intoxicação por MF**

O diagnóstico da intoxicação por MF deve ser realizado com base no histórico, nos sinais clínicos, nos achados de necropsia e confirmado por análises toxicológicas (EGEKEZE; OEHME, 1979a). As amostras enviadas ao laboratório para análises químicas devem incluir, pelo menos, 50g (O'HAGAN, 2004; PARTON; BRUERE; CHAMBERS, 2001) de iscas suspeitas, vômito, conteúdo estomacal, fígado ou rim (EGEKEZE; OEHME, 1979a). No entanto, a análise laboratorial é complexa, demorada e disponível em apenas alguns laboratórios. Além disso, o processamento da amostra tem que ser rápido, uma vez que, o MF é rapidamente metabolizado por bactérias (GOH et al., 2005).

O quadro clínico dessa intoxicação, muitas vezes, é inespecífico e existem poucos estudos relacionados ao seu diagnóstico laboratorial (CHI et al., 1996, CHI; LIN; CHEN, 1999; O'HAGAN, 2004). Contudo, algumas alterações bioquímicas não específicas têm sido descritas e, incluem aumento da glicemia uréica, creatinina, e a atividade da transaminase glutâmico-pirúvica (BOSAKOWSKI; LEVIN, 1986). Outros autores descrevem acidose metabólica e hipocalemia (SUZUKI, 1999). Além disso, a concentração sérica de citrato pode estar até três vezes maior do que os parâmetros de referência (BOSAKOWSKI; LEVIN, 1986). Desta maneira, o citrato sérico pode ser investigado como um indicador periférico da presença de compostos que inibem o seu metabolismo, como o MF. Em cães e ratos, o aumento da concentração sérica de citrato está relacionado ao aparecimento e à gravidade dos sintomas da intoxicação por MF (BOSAKOWSKI; LEVIN, 1986). Estudos realizados em humanos verificaram que a elevação da



concentração de citrato nos tecidos pode indicar intoxicação por compostos organofluorados (EGYED, 1978). Entretanto, segundo Schultz et al. (1982) os níveis de citrato no sangue ou tecidos, de ovelhas intoxicadas por esse composto, não possuem valor diagnóstico definitivo. De acordo com Marrazzi e Holliday (1981) a hiperglicemia pode ser um achado laboratorial consistente nos casos de intoxicação por MF e, portanto, pode auxiliar no diagnóstico.

Collicchio-Zuanaze (2006) avaliou o perfil hematológico e bioquímico de gatos intoxicados experimentalmente por MF, por via oral, na dose de 0,45 mg/kg, com o intuito de estabelecer parâmetros para uma triagem diagnóstica laboratorial. Nesse estudo verificaram-se alterações transitórias no perfil hematológico, caracterizadas por leucopenia com neutropenia, linfopenia e eosinopenia absolutas, assim como trombocitopenia 12 a 30 horas após a intoxicação. Foi demonstrado que, 96 horas após a administração do MF, tais alterações não são mais detectadas. As avaliações bioquímicas revelaram hiperglicemia e aumento da atividade das enzimas lactato desidrogenase, creatinaquinase (CK) e sua fração cardíaca (CK-MB), bem como hipocalemia, hipofosfatemia e hipomagnesemia transitórias, a partir de seis horas após a administração do MF. A análise toxicológica por CLAE demonstrou ser um método diagnóstico simples, rápido e eficiente em estágios iniciais de intoxicação por MF em gatos, uma vez que foi possível quantificar a substância em 75% (12/15) das amostras de soro examinadas; dessa forma, o método utilizado foi considerado efetivo no diagnóstico toxicológico da intoxicação por MF. Porém, a autora ressalta que o método seria mais eficaz antes da metabolização total do tóxico no organismo e do desenvolvimento de sinais clínicos avançados da intoxicação e, sugere que a quantidade residual detectada no soro sanguíneo pode ser útil para relacionar a quantidade de MF circulante no organismo, com a evolução da intoxicação e o prognóstico.

A confirmação do diagnóstico da intoxicação por MF pode ser realizado através de análises toxicológicas para identificação do composto. Usualmente são empregados métodos qualitativos que foram desenvolvidos, principalmente, para detecção desse composto em iscas líquidas, amostras de solo, sangue, urina, tecidos e plantas tóxicas (SAKAI; MIYAHARA, 1981).

Traços do MF (0,6 m/L) podem ser detectados na água através de CG por captura de elétrons e em amostras biológicas em concentrações de 10-15 m/kg (EISLER, 1995). Além disso, esse composto pode ser quantificado em soluções com baixas concentrações (0,2 mg/L) (KIMBALL; MISHALINE, 1993). Em tecidos biológicos, vários métodos têm sido utilizados para determinar o MF, incluindo colorimetria, eletrodos de íon fluoreto, cromatografia de gás-líquido e de alta pressão, no entanto, esses métodos envolvem longos procedimentos de extração, possuem baixas taxas de recuperação e seletividade (ALLENDER, 1990).

A técnica de cromatografia em camada delgada é usada para identificar o MF a partir de misturas extraídas de ácido fórmico e fluoreto de sódio para determinações fluorométricas (SAKAI; MIYAHARA, 1981, McGARY; MELOAN, 1982).

Análises toxicológicas quantitativas podem ser realizadas por técnicas de CG e CLAE (KRAMER, 1984; OZAWA; TSUKIOKA, 1989; ALLENDER, 1990; MINNAAR et al., 2000; DEMARCHI et al., 2001; SPORKERT et al., 2002; ZEFERINO et al., 2005). A CG é capaz de determinar a presença do MF como ácido livre em solventes aquosos (KIMBALL; MISHALINE, 1993). Outros métodos bastante sensíveis para detecção do MF incluem a eletroforese de zona capilar, comumente realizada em iscas (FUYU; HUIFANG; YI, 1996) e o isolamento do MF de amostras biológicas por cromatografia de troca iônica com conversão a seu éster dodecil (BURKE; LEW; COMINOS, 1989).

A determinação do MF em tecidos biológicos e iscas através de CG com extração em acetona e água seguida por derivatização com brometo de pentafluorobenzil, é uma técnica de alta sensibilidade e que possui baixo limite de detecção (ALLENDER, 1990). Outros autores

quantificaram do MF por CG com espectrometria de massa e derivatização do extrato das amostras biológicas também em pentafluorobenzil, porém, a extração foi realizada com a utilização de tungstato de sódio e acetato de etila (CASPER; McMAHON; PAULSON, 1985). Segundo Kimball e Mishalaine (1993) esse composto também pode ser identificado como ácido livre em solvente aquoso por CG com detector de massa seletivo utilizando colunas capilares de polietilenoglicol.

Análises qualitativas do MF foram realizadas em amostras de rim, fígado e estômago com a utilização de éster benzil em CG. Nesse estudo, ao comparar os métodos de detecção com benzilação ativada por pirólise de sal de amônio quaternário, verificaram-se que os limites de detecção do MF nos tecidos são menores pela técnica da foto-ionização (15 mg/kg), quando comparados ao método de detecção por ionização em chama (100 mg/kg). Cabe ressaltar que o limite de detecção com estes procedimentos é menos sensível do que a CG/EM, no entanto, a CG/EM não está normalmente disponível nos laboratórios de diagnóstico veterinário (HOOGENBOOM; RAMMELL, 1987).

Outro método descrito de análise do MF por CG com espectrometria de massa, que apresenta alta sensibilidade com baixos limites de detecção (SPORKERT et al., 2002).

DEMARCHI et al. (2001) otimizaram um método anteriormente descrito por Ozawa e Tsukioka (1989), e determinaram por CG a concentração de MF no sangue de coelhos. A extração otimizada do MF foi realizada com a utilização de colunas de alumina e a derivatização em acetato de etila, utilizando-se o diclorohexilcarbodiimida (DCC) como catalisador da reação e 2,4 dicloroanilina (DCA) como agente da derivação para detecção no cromatógrafo. A purificação do derivado foi feito com acetonitrila (DEMARCHI et al., 2001). Técnicas de CLAE também foram desenvolvidas para análises quantitativas de MF em amostras biológicas e iscas, além de serem utilizadas na identificação do princípio ativo de algumas plantas tóxicas como *Dichapetalum cymosum* e *Palicourea marcgravii* (MINNAAR et al., 2000). Neste estudo, o MF foi identificado em tais plantas tóxicas, bem como em amostras de fígado e rúmen de bovinos por meio de CLAE. Segundo esses autores, em amostras biológicas mantidas a temperatura ambiente por 14 dias ocorre redução de 50% na capacidade de identificação do MF, uma vez que, tais amostras se mantidas em temperatura ambiental devem ser analisadas em até sete dias (MINNAAR et al., 2000).

Outro autor estudou um método analítico, como forma alternativa de diagnóstico nas intoxicações causadas por *P. marcgravii*, através da caracterização do seu princípio tóxico, que considerou ser o MF, por cromatografia delgada do macerado de vísceras de coelhos intoxicados experimentalmente por essa planta. Nesse trabalho, verificou-se que o MF pode ser identificado por cromatografia em diversos órgãos (cérebro, coração, fígado, rim e estômago) e no conteúdo estomacal de animais intoxicados pela planta. O autor afirmou que essa técnica tem aplicabilidade na rotina laboratorial devido a praticidade, baixo custo e rapidez (PONTUAL, 2000).

Recentemente, Zeferino et al. (2005) desenvolveram um procedimento analítico simples, rápido, econômico e preciso para quantificar o MF em amostras de soro sanguíneo de gatos. O método utiliza CLAE com detector de condutividade onde é realizada a extração líquido-líquido. A detecção do MF através dessa técnica reduz significativamente o consumo de solventes e o tempo das análises quando comparado aos outros métodos descritos na literatura (COLLICCHIO-ZUANAZE, 2006).

### 2.1.12 Prognóstico da intoxicação por MF

Em geral, o prognóstico da intoxicação por MF varia de ruim a grave e depende da quantidade ingerida do tóxico, bem como da gravidade dos sinais clínicos. Contudo, há melhora do prognóstico quando o tratamento com acetamida ou bicarbonato de sódio é instituído precocemente (PARTON, 2006). Embora no homem, achados como hipotensão, acidose metabólica e aumentado da concentração de creatinina sérica sejam indicadores de mau prognóstico (CHI et al., 1996), em animais não se conhece a relevância de tais alterações no estabelecimento do prognóstico (GOH et al., 2005).

### 2.1.13 Tentativas terapêuticas na intoxicação por MF

Embora os mecanismos de toxicidade do MF já tenham sido suficientemente estudados e compreendidos há mais de quatro décadas, ainda não foram desenvolvidos, até o momento, protocolos terapêuticos satisfatórios no tratamento da intoxicação por MF (PROUDFOOT; BRADBERRT; VALE, 2006). O tratamento da intoxicação por MF é um desafio para os médicos e veterinários (GOH et al., 2005), uma vez que não se conhece nenhum agente capaz de impedir ou reverter de maneira eficaz os efeitos do MF, além disso o desfecho dessa intoxicação é quase sempre fatal (BURGER; FLECKNELL, 1994). De fato, a maior parte das tentativas de reversão dos efeitos tóxicos do MF não tem obtido êxito e, apenas poucos estudos relatam sucesso na terapia contra essa intoxicação (O'HAGAN, 2004).

O tratamento da intoxicação por MF consiste basicamente em desintoxicação, terapias de suporte e específica, com a administração de antídoto. Como tentativas de desintoxicação, em geral, são realizadas a indução de vômito e lavagem gástrica, quando o animal não vomitou, e administração de adsorventes como o carvão ativado, colestipol ou resinas de troca iônica, que deve ser realizada o mais rápido possível após a ingestão do MF (OSWEILER, 1996; NORRIS; EASON; WICKSTROM, 2000), entretanto, na literatura são escassos os dados confiáveis acerca da eficácia desse método (GOH et al., 2005). Em ratos (WICKSTROM; COOK; EASON, 1998a), diferentemente do que ocorre em cães (GOH et al., 2005), o colestipol reduz a 50% a concentração sérica do MF durante as primeiras quatro horas após a intoxicação (WICKSTROM; COOK; EASON, 1998a) e reduz a mortalidade dos ratos, quando administrado 30 minutos após a exposição ao MF (NORRIS; EASON; WICKSTROM, 2000). Contudo, quando são administradas altas doses de MF, tanto o carvão ativado como o colestipol, não são capazes de reduzir a absorção do MF de forma suficiente para proteger os ratos do óbito (WICKSTROM; COOK; EASON, 1998a). Em cães, a utilização de diálise peritoneal, embora recupere quantidade substancial do MF, não é eficaz na redução da concentração sanguínea dessa substância (WICKSTROM; COOK; EASON, 1998a). Na terapia de suporte, são utilizadas medicações que controlam as convulsões, com auxílio da intubação e ventilação (OSWEILER, 1996).

Uma grande variedade de potenciais antídotos têm sido estudados, em especial, em ratos e camundongos, incluindo o monoacetato de glicerol (CHENOWETH et al., 1951; PETERS; MORSELLI, 1965; TAITEMAN et al., 1983; RAMMELL; LIVINGSTONE, 1985), acetamida (EGYED; SCHULTZ, 1986; GÓRNIK; PALERMO-NETO; SPINOSA, 1994), sais de cálcio (CHENOWETH; GILLMAN, 1947; CHENOWETH et al., 1951; SHAPIRA; TITELMAN; BURSZTEIN, 1980) gluconato de cálcio associado ao  $\alpha$ -cetogluturato de sódio e succinato de sódio (OMARA; SISODIA, 1990), bicarbonato de sódio (CHURCHILL, 1996), agentes moduladores de neurotransmissores (COOK et al., 2001) e 4-metilpirazole (FELDWICK et al., 1997).

Com base no mecanismo de ação do MF, acredita-se que compostos precursores de acetato (referidos como “doadores de acetato”) sejam capazes de reduzir a inibição competitiva do MF pelo mesmo sítio ativo (coenzima A) (PATTISON, 1959). Como consequência, tais compostos exerceriam efeito protetor nas intoxicações pelo MF, por impedirem ou reduzirem a ocorrência da chamada “síntese letal” (terapia específica) (EGYED; SCHULTZ, 1986). Diversas substâncias já foram pesquisadas e testadas para essa finalidade, entretanto, apenas um número reduzido dessas apresentou valor terapêutico. Para serem consideradas eficazes, além de serem doadoras de acetato, devem ser solúveis e penetrar rapidamente nas estruturas celulares (PATTISON, 1959). Poucos compostos se enquadram nestes critérios, incluindo o etanol, o acetato de sódio, a acetamida e o monoacetato de glicerol (Monoacetin<sup>®</sup>). Cabe ressaltar que entre essas substâncias existem diferenças de eficácia, que são relacionadas com a espécie animal envolvida e com a potência de seus efeitos (MORAES, 1993). Adicionalmente, diversos estudos foram realizados no sentido de desenvolver antídotos capazes de converter o fluorocitrato de volta a MF. Contudo, nenhum dos mais de 400 compostos testados apresentaram os resultados desejados (PATTISON; PETERS, 1966).

O monoacetato de glicerol é considerado o agente protetor mais eficaz em casos de intoxicação por fluoroacetato em ratos, coelhos, cães e macacos *Rhesus* (CHENOWETH et al., 1951; RAMMELL; LIVINGSTONE, 1985), quando administrado precocemente, na dose de 0,5 mg/kg/hora, por via intravenosa (IV) ou intramuscular (IM) (MOUNT, 1992). Entretanto, segundo O'Hagan (2004), esse composto não está disponível para a maioria dos veterinários. O efeito protetor do monoacetato de glicerol no tratamento profilático está relacionado ao rápido suprimento do radical acetato para as células. Cabe ressaltar que a dose terapêutica pode ser próxima da dose tóxica (CHENOWETH et al., 1951). Peters e Morselli (1965) verificaram em ratos experimentalmente intoxicados por MF, por via intraperitoneal, que o monoacetato de glicerol permite o prolongamento no tempo da sobrevivência quando fornecido até 20 minutos após a intoxicação.

Em 1982, a Organização Mundial de Saúde (OMS) recomendou o uso do monoacetato de glicerol na dose de 0,5 mg/kg, por via intramuscular, a cada 30 minutos por 12 horas (RAMMELL; LIVINGSTONE, 1985). Outro protocolo descrito para o homem é baseado em estudos realizados em macacos (CHENOWETH et al., 1951) e consiste na administração de 0,1-0,5 mL de solução 60% de monoacetato de glicerol/kg, diluída à uma concentração de <1%, antes da administração por via intravenosa. Todas essas abordagens terapêuticas continuam infundadas (PROUDFOOT; BRADBERRT; VALE, 2006). No entanto, alguns autores recomendam para cães doses de 2-4 mg/kg/hora via IM (KIRK, 1980) ou inicialmente 0,5 mL/kg/IM, e doses seguintes de 0,2 mL/kg/IM a cada 30 minutos por 5 horas (RAMMELL; LIVINGSTONE, 1985). Em macacos *Rhesus*, nos quais a resposta ao Monoacetin<sup>®</sup> é similar à do homem, verificam-se tanto a redução da mortalidade como dos sinais clínicos da intoxicação, mesmo quando fornecido 30 minutos após a administração IV do MF, ou seja, inclusive após o início das convulsões (CHENOWETH et al., 1951).

Gribble (1973) sugere que o tratamento preventivo da intoxicação por MF seria eficaz pelo fornecimento de altas doses de monoacetato de glicerol ou etanol. Entretanto, tal conduta requer a administração dessas substâncias imediatamente após a ingestão do MF.

A oxidação de etanol leva ao aumento da concentração sanguínea de acetato e consequente inibição da produção de fluorocitrato. A mortalidade de ratos, cobaias e coelhos intoxicados é significativamente reduzida através da administração de 800 mg/kg de solução de etanol a 10%, por via subcutânea, em até 30 minutos após a exposição ao MF. O efeito protetor

mais marcante foi observado em camundongos, quando o etanol foi fornecido 10 minutos após a intoxicação. Por outro lado, em cães, esse efeito não é observado. (HUTCHENS; WAGNER; PODOLSKY, 1949). Outra opção é administrar 8,8 mL/kg de solução de 1:1 de etanol a 50%, por via oral, associado ao ácido acético a 5%, embora seja menos eficaz que o Monoacetin<sup>®</sup> (PALERMO-NETO; MORAES-MOREAU, 1995). Em ratos (TOURTELOTE; CONN, 1949) e camundongos (CHENOWETH, 1949), foi demonstrado experimentalmente que o acetato de sódio e o etanol, quando administrado juntos, possuem efeito sinérgico protetor na intoxicação por MF (CHENOWETH, 1949; TOURTELOTE; CONN, 1949). Neste estudo, verificou-se redução da mortalidade de 80% para 30% após o emprego desse protocolo terapêutico em ratos intoxicados com doses de MF duas vezes maiores que a LD<sub>50</sub> (TOURTELOTE; CONN, 1949). À semelhança, outros autores observaram, em camundongos que receberam MF em doses 10 vezes maiores que a LD<sub>50</sub> (170 mg/kg), redução da mortalidade em 90% nos animais tratados com acetato de sódio (2-3 g/kg), por via intraperitoneal, dissolvido em etanol (1,6 g/kg) (TOURTELLETTE; COON, 1950). Em macacos, a administração de 2,0 g/kg de acetato de sódio associada a 2,0 g/kg de etanol é recomendada para o tratamento da intoxicação por MF (PEACOCK, 1964).

Pecuaristas da África do Sul, apesar de desconhecerem o mecanismo de ação desses antídotos, fazem uso de um interessante tratamento popular empírico para reverter à intoxicação por *Dichapetalum cymosum*, planta da África do Sul que contém MF, em animais de produção, baseado na utilização de partes iguais de vinagre (ácido acético) e cerveja de sorgo (etanol) (STEYN, 1934).

Ao avaliar a eficácia da administração de acetamida (CH<sub>3</sub>CONH<sub>2</sub>) na intoxicação experimental por *D. cymosum* em cobaios e ovinos verificaram-se que, em cobaios, a administração de doses de 2,5 e 5,0g/kg de acetamida, por via oral, simultaneamente com 2,0 e 4,0 g/kg da planta preveniu os sinais clínicos e a morte de 4/4 e 8/8 cobaios, respectivamente. Todos os animais controle, que receberam a mesma dose da planta, porém sem a acetamida morreram (2/2 e 10/10, respectivamente). Nos experimentos realizados em ovinos, observou-se que a administração de folhas de *D. cymosum* para os animais controles nas doses de 1,0, 2,5 e 5,0 g/kg foram 100% letais. Nos estudos subsequentes, nos quais foram administrados acetamida em doses únicas de 5,0 g/kg para três ovelhas, em até 24h antes da administração de 5,0 g/kg de *D. cymosum* todos os animais vieram a óbito. Em experimentos realizados com a mesma dose de acetamida, porém repetida em até quatro vezes, conforme o protocolo a seguir: Ovino (Ov.) nº 4 recebeu acetamida 18h antes e 1h após a administração de 5,0 g/kg da planta e o Ov. nº 5 recebeu acetamida 24h, 19h e 1h antes e 10 minutos depois da administração de 5,0 g/kg da planta, verificaram-se sinais clínicos nos dois animais e óbito do Ov. nº 4, porém, o animal nº 5 recuperou-se após 5 dias. Já nos experimentos realizados com a administração de doses únicas de 2,0 g/kg de acetamida para três animais, simultaneamente com o fornecimento de 1,0 g/kg da planta não foram observados sinais clínicos e nem óbito dos animais. Por outro lado, nos experimentos com a administração de acetamida (2,0 g/kg) repetida, em até três vezes antes e durante a administração da planta (1,0 g/kg), para outros dois ovinos, verificaram-se discretos sinais clínicos e recuperação dos animais após 24 horas (EGYED; SCHULTZ, 1986). Esses autores concluíram que a eficácia da acetamida depende de diversos fatores, incluindo a toxidez da planta em questão, a dose de acetamida administrada e do tempo decorrido entre a intoxicação e fornecimento do antídoto. E sugerem que a eficácia de 100% da acetamida como antídoto contra a intoxicação por *D. cymosum*, aparentemente, ocorre quando ela é fornecida na dose de 2,0 g/kg aos ovinos que ingeriram a dose letal de 1,0 g/kg da planta.

Outros autores estudaram o efeito da acetamida em ratos intoxicados por extrato aquoso *Palicourea marcgravii* (117,9 mg/kg) e MF (1,09 mg/kg) e, verificaram que a administração de 1,25 g/kg de acetamida, por via intraperitoneal, uma hora antes da intoxicação dos animais, em ambos os casos, evita o desenvolvimento de sinais clínicos e do óbito (GÓRNIK; PALERMONETO; SPINOSA, 1994).

A eficiência do uso de gluconato de cálcio (130 mg/kg),  $\alpha$ -cetogluturato (252 mg/kg) e succinato de sódio (240 mg/kg) como antídotos contra a intoxicação por MF foram avaliados individualmente e associados, em camundongos intoxicados com 15,0 mg/kg de MF, por via intraperitoneal (OMARA; SISODIA, 1990). Os tratamentos foram realizados 15 minutos a 36 horas após a administração do MF. A administração isolada desses três antídotos, bem como a associação do gluconato de cálcio com o alfa-cetogluturato foi ineficaz na redução da mortalidade dos animais. No entanto, a administração do succinato de sódio associado ao gluconato de cálcio, 15 minutos após a intoxicação por MF, gera um forte efeito protetor. Por outro lado, o uso de succinato de sódio em doses elevadas (360-480 mg/kg) associado ao gluconato de cálcio (130 mg/kg) não produz efeito protetor (OMARA; SISODIA, 1990) por razões, até então, desconhecidas (PROUDFOOT; BRADBERRT; VALE, 2006). Outros estudos demonstraram que a administração de 5 a 10 mL de uma solução a 10% de gluconato de cálcio, por via endovenosa, previne o desenvolvimento dos quadros tetaniformes, resultantes da acidose láctica (LLOYD, 1983; SCHVARTSMAN, 1971). Collicchio-Zuanaze et al. (2006) avaliaram o efeito da administração de succinato de sódio e gluconato de cálcio a 10%, em gatos intoxicados experimentalmente por MF e constataram taxa de sobrevida de 75% nos animais tratados contra 25% do grupo controle (não-tratado). Verificaram-se ainda, a normalização precoce do pH, dos íons bicarbonato e do cálcio ionizado, bem como uma reversão mais eficiente dos quadros de acidose metabólica e hipocalcemia. Adicionalmente, esses autores ressaltam que é extremamente importante o emprego um protocolo eficaz no controle dos episódios convulsivos, uma vez que a convulsão observada em gatos intoxicados por MF podem ser fatais. Tais autores verificaram que o uso de anticonvulsivantes, como os benzodiazepínicos no controle das convulsões tetânicas somente promovem efeito satisfatório se forem administradas repetidas vezes. Desta forma, a utilização de barbitúricos foi considerada pelos autores como a melhor opção no controle das convulsões (COLLICCHIO-ZUANAZE et al., 2006).

Foi demonstrado que o uso de barbitúricos em cães intoxicados por MF, também possui valor terapêutico, em especial, quando administrados precocemente (TOURTELLETTE; COON, 1950). Nesse estudo, verificou-se que a administração do barbitúrico 30 min após a intoxicação por MF, com doses quatro vezes maiores que a LD<sub>50</sub> resulta na sobrevida de 80% dos cães. Por outro lado, quando a terapia é efetuada 3 horas após a intoxicação, a taxa de sobrevida é reduzida consideravelmente (17%). Adicionalmente, foi observado que com altas doses de MF (seis vezes o valor da LD<sub>50</sub>), os barbitúricos são ineficazes (TOURTELLETTE; COON, 1950). Outros autores estudaram o efeito profilático da reserpina na prevenção dos distúrbios cardíacos causados pelo MF em coelhos (HUANG; PANG; CH'ANG, 1980). Nesse estudo foram realizadas três administrações prévias de reserpina, com intervalo de quatro horas, por via oral, na dose de 0,25 mg/kg e, em seguida, os animais receberam 1,5 mg/kg de MF. A maioria dos animais do grupo tratado com reserpina apresentou prolongamento no tempo de sobrevivência e, alguns animais, se recuperaram completamente. Todos os coelhos do grupo controle morreram. Os autores concluíram que a reserpina preveniu a estimulação adrenérgica de aminas vasoativas, liberadas durante a intoxicação, como mecanismo compensatório para a deficiência do suprimento energético para o coração e, que, o tratamento com reserpina não é tão eficiente como a acetamida, na terapia da intoxicação por MF (HUANG; PANG; CH'ANG, 1980).

A avaliação da eficácia do tratamento com gluconato de cálcio 10% e monoacetato de glicerol, como antídotos em cães, não demonstrou diferenças estatísticas significativas quando comparados com o grupo controle. No entanto, a comparação da taxa de sobrevivida dos animais submetidos aos diferentes tratamentos, revelou que os cães tratados com gluconato de cálcio apresentaram maior sobrevivida (DE PAULA, 2000).

A administração de 5 a 10 mL de solução a 10% de cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ), por via intravenosa lenta e contínua, acompanhada de monitorização previne a taquicardia e a fibrilação ventricular. Tal tratamento tem como finalidade restaurar os níveis de cálcio ionizado que foram supostamente quelados pela elevada concentração do citrato sérico (PALERMO-NETO; MORAES-MOREAU, 1995). Outros autores relatam que o tratamento com  $\text{CaCl}_2$  prolonga o tempo de vida de gatos intoxicados e sugerem que a concentração deste íon é um ponto importante frente à patogênese da intoxicação por MF (ROY; TAITELMAN; BURSZSTEIN, 1980).

Foi verificado que a administração de doses elevadas de bicarbonato de sódio, com taxa de infusão contínua (300 mg/kg durante 15 a 30 minutos), causa aumento considerável na taxa de sobrevivida de cães expostos ao MF, que já manifestam sinais clínicos avançados (CHURCHILL, 1996). Segundo outros autores, o bicarbonato de sódio é vital no combate à acidose metabólica observada em casos de intoxicação por MF (PALERMO-NETO; MORAES-MOREAU, 1995).

Em ratos intoxicados com *P. marcgravii*, o emprego de hidrato de cloral associado à xilazina mostrou-se capaz de prevenir as convulsões e morte e, desta forma, sugeriu-se que essa substância pode atuar como doadora de acetato (GÓRNIK; PALERMO-NETO; SPINOSA, 1993).

Em pesquisa recente, realizada com a finalidade de encontrar um antídoto para o MF, foram testadas diversas substâncias em camundongos intoxicados com 15 mg/kg de MF, por via intraperitoneal (IP) (PEREIRA; PEREIRA, 2005). As substâncias ensaiadas foram administradas IP, 30 minutos após os camundongos terem recebido o MF e, incluíram, triacetato de glicerila, acetilmetionina, citrato de sódio, cloridrato de d,l-carnitina, cloreto de magnésio, tiosulfato de magnésio e tiosulfato de sódio, todos na dose de 100 mg/kg, exceto o cloreto de magnésio, cuja a dose foi 50 mg/kg. Verificou-se que a substância com maior atividade antagônica para doses letais do MF foi o tiosulfato de magnésio, uma vez que, o seu emprego, evitou o óbito de todos os camundongos (10/10). Adicionalmente, administraram-se uma solução com 50 g de tiosulfato de magnésio, por via endovenosa, a um novilho de 300 kg, intoxicado com *P. marcgravii* e que já manifestava sintomas leves de intoxicação. No dia seguinte, o animal estava completamente recuperado. O mecanismo de ação do tiosulfato de magnésio na intoxicação por MF é desconhecido (PEREIRA; PEREIRA, 2005).

Outros autores estudaram o valor terapêutico da utilização de agentes moduladores de neurotransmissores na intoxicação por MF em ratos e, verificaram que o uso isolado de agonistas GABA é capaz de controlar apenas alguns sinais clínicos, em especial, as convulsões, embora não aumente a sobrevivida dos animais intoxicados (WICKSTROM; COOK; EASON, 1998b). Por outro lado, o uso concomitante de diferentes neuromoduladores aumenta significativamente a sobrevivida dos animais (WICKSTROM; COOK; EASON, 1998b; WICKSTROM; COOK; EASON, 1998c). De fato, em estudos complementares verificaram-se que a administração associada de agentes moduladores de neurotransmissores, incluindo inibidores de glutamato e óxido nítrico, bloqueadores dos canais de cálcio e sódio, agonistas GABA, agonistas kappa opióides, agonistas dopaminérgicos e serotoninérgicos, bem como diversos fatores de crescimento neurotróficos e drogas anti-inflamatórias não-esteróides, quando administradas, por via oral, a ratos, ovelhas e galinhas, proporciona significativa proteção contra os efeitos letais do

MF (WICKSTROM; COOK; EASON, 1998a; COOK et al., 2001). Em ratos e ovelhas, esse efeito protetor pode ser otimizado pelo uso de pirrolopirimidinas, que aumentam a velocidade de transferência do antídoto pela barreira hematoencefálica (COOK et al., 2001). Cabe ressaltar que, em ratos, a margem de segurança da administração combinada de diversos neuromoduladores é pequena, uma vez que a utilização de doses duas a quatro vezes maiores que a dose terapêutica aumenta a taxa de mortalidade dos animais (WICKSTROM; COOK; EASON, 1998a).

Estudos recentes desenvolvidos na Austrália e na Nova Zelândia avaliaram os potenciais benefícios da terapia com 4-metilpirazole, um fármaco indicado no tratamento de intoxicação por etilenoglicol, em ratos intoxicados por MF (FELDWICK et al., 1997). Esses autores verificaram que a administração de 4-metilpirazole reduz a produção de oxaloacetato através da inibição da enzima malato desidrogenase, o que resulta na redução da produção de fluorocitrato. Embora os sinais clínicos manifestados pelos animais tratados sejam mais leves do que aqueles apresentados pelo grupo controle, não foi verificada redução significativa na concentração sérica de citrato entre os animais experimentais e o grupo controle (FELDWICK et al., 1997).

#### **2.1.14 Diagnóstico diferencial da intoxicação por MF**

As enfermidades a serem consideradas no diagnóstico diferencial da intoxicação por MF variam em função da espécie em questão, uma vez que alguns animais manifestam sintomas predominantemente cardíacos, outros neurológicos ou referentes a ambos os sistemas.

##### **2.1.14.1 Intoxicação por organofosforados, carbamatos, organoclorados e estricnina**

Os principais diagnósticos diferenciais da intoxicação por MF em cães e gatos incluem intoxicações por organofosforados, carbamatos, organoclorados e estricnina (O'HAGAN, 2004). Na Tabela 5 são descritos os principais sinais clínicos apresentados por cães e gatos intoxicados por essas substâncias. Em animais intoxicados por esses compostos, não são observadas lesões macroscópicas características ou significativas (HUMPHREYS, 1988; CAMPBELL; CHAPMAN, 2000; PLUMLEE, 2004; RADOSTITS et al., 2002).

Os sinais clínicos da intoxicação por carbamatos e organofosforados ocorrem devido ao acúmulo de acetilcolina, o que resulta em hiperestimulação do sistema nervoso parassimpático. Desta forma, os efeitos tóxicos reproduzem as respostas muscarínicas, nicotínicas e sobre o SNC causados pela acetilcolina. Os efeitos muscarínicos manifestam-se por dispnéia, sudorese, sialorréia, miose, vômito e diarreia. Os efeitos nicotínicos caracterizam-se por fraqueza, contrações espasmódicas, tremores e tetania, convulsões, paralisia flácida e opistótono (RADOSTITS et al., 2002). No sistema nervoso central, o excesso de acetilcolina causa inquietação, ataxia, convulsão, depressão e coma (BARROS; DRIEMEIER, 2007).

Em cães e gatos intoxicados por carbamatos o início dos primeiros sintomas ocorre, em geral, 30 minutos a 3 horas após a exposição ao tóxico. Clinicamente, verifica-se sialorréia, hipersecreção brônquica, ataxia, diarreia, tremores musculares, fraqueza, hiperestesia, agitação e incontinência urinária. Em casos graves, pode ocorrer bradicardia, depressão respiratória, convulsões, cianose e morte (CAMPBELL; CHAPMAN, 2000). A evolução pode variar de poucos minutos a várias horas (PLUMLEE, 2004). Ao exame macroscópico de cães intoxicados por Aldicarb, um tipo de carbamato, podem apresentar no pulmão, hemorragia, edema e congestão, além de congestão em fígado e rim, petéquias e sufusões na pleura, hemotórax e hidrotórax (XAVIER; KOGIKA; SPINOSA, 2002). A confirmação do diagnóstico é feita através



de exames laboratoriais que determinem a presença de carbamatos/organofosforados (RADOSTITS et al., 2002).

Cabe ressaltar que intoxicações acidentais por organofosforados e carbamatos podem ocorrer em ovinos, caprinos, bovinos, suínos e equinos após o emprego de inseticidas em plantações ou uso de antiparasitários em concentrações inadequadas (RADOSTITS et al., 2002), contudo a sintomatologia difere daquela observada em casos de intoxicação por MF.

Em relação à intoxicação por organoclorados, embora uma variedade de efeitos clínicos e subclínicos sejam atribuídos a esses compostos (Tabela 5), os sinais clínicos da intoxicação aguda são, predominantemente, neuromusculares. Em geral, os primeiros sintomas se iniciam poucos minutos a dois dias após a exposição a essa substância. O diagnóstico pode ser confirmado pela demonstração laboratorial do tóxico no cérebro, fígado, gordura ou sangue (PETERSON; TALCOTT, 2006).

A intoxicação por estricnina em animais de companhia cursa com sintomatologia semelhante aquela acima descrita, nas intoxicações por pesticidas e inseticidas (Tabela 5). Geralmente, os primeiros sinais clínicos se manifestam 10 a 120 minutos após de ingestão dessa substância. Os sintomas incluem ataxia, espasmos e rigidez muscular, convulsões intermitentes ou contínuas e opistótono. Estímulos externos agravam os episódios convulsivos. O vômito não é comumente observado. A evolução pode variar entre 10 minutos a 48 horas (PLUMLEE, 2004).

Exames toxicológicos e o aumento dos níveis de citrato nos tecidos diferenciam a intoxicação por MF das demais intoxicações acima descritas (EGYED et al., 1977).

**Tabela 5.** Quadro clínico causado por pesticidas considerados diagnósticos diferenciais da intoxicação por MF em cães e gatos

<b>Substância</b>	<b>Sinais clínicos</b>
Monofluoroacetato de sódio	Início agudo, vômitos, diarreia, micção frequente, inquietação, edema pulmonar, hipersensibilidade, convulsões tônico-clônicas, decúbito, movimentos de pedalagem, opistótono e óbito.
Estricnina	Início agudo, tremores musculares, extensão e rigidez dos membros, hiperestesia, opistótono, tetania e convulsões provocadas por estímulos externos.
Organofosforados e carbamatos	Início agudo, efeitos muscarínicos (sudorese, sialorréia, lacrimejamento, miose, náusea, vômito e diarreia), efeitos nicotínicos (rigidez e tremores musculares, debilidade, paresia e paralisia), e sinais nervosos (ataxia, hiperatividade, convulsão, depressão e coma).
Organoclorados	Início agudo, sialorréia, tremores musculares, hiperatividade, ataxia, andar em círculos, hipertermia, convulsões tônico-clônicas induzidas por estímulos externos.

Tabela adaptada de Parton (2006).

#### **2.1.14.2 Deficiência de selênio e vitamina E**

O selênio (Se) e a vitamina E são agentes antioxidantes que protegem as membranas celulares contra a ação de radicais livres. O Se é um componente essencial da enzima glutatona peroxidase, que ocorre, principalmente, no citosol das células e detoxifica peróxidos de lipídeos que podem destruir a integridade estrutural celular e provocar desordens metabólicas. A vitamina E complementa a ação do Se uma vez que atua no meio intracelular, enquanto o Se age no meio extracelular (TAKAHASHI; NEWBURGER; COHEN, 1986; GORGI, 2004).

As manifestações da síndrome da deficiência de selênio e vitamina E incluem, principalmente, miopatia nutricional (doença dos músculos brancos) em bovinos, suínos, ovinos e equinos; hepatose dietética, doença do coração de amora e diátese exsudativa em suínos; retenção de placenta em bovinos e baixa eficiência reprodutiva em ovinos. Contudo, os animais podem morrer subitamente sem manifestarem sinais clínicos prévios ou após apresentarem repentinamente depressão, dispnéia, corrimento nasal espumoso tingido de sangue e acentuada taquicardia. Nessa forma aguda, em geral, a morbidade é 100% e a mortalidade 15%. As lesões de mionecrose segmentar são características dessa enfermidade, mas não diagnósticas. Para a confirmação do diagnóstico é necessário avaliar os níveis de Se, no fígado e córtex renal, bem como de tocoferol no parênquima hepático (BARROS, 2007).

#### **2.1.14.3 “Falling disease”**

A “falling disease” (doença da queda), descrita pela primeira vez na Austrália por Bennets, Beck e Harley (1948), é considerada uma manifestação terminal da carência de cobre em bovinos, que cursa com “morte súbita”. No Brasil, entre 1986 e 1990, foram descritos cinco surtos de “falling disease”, em bovinos em propriedades localizadas às margens da Lagoa Mirim e Lagoa dos Patos no Estado do Rio Grande do Sul. Em todos os casos, a “morte súbita” foi observada quando os bovinos, aparentemente sadios, eram movimentados. Durante o transporte, alguns animais caíam e morriam subitamente, apresentando apenas tremores musculares. Ao exame macroscópico não foram observadas lesões significativas (RIET-CORREA et al., 1993). Contudo, na Austrália, verificaram-se no coração, flacidez e coloração mais pálida que o normal e, a histopatologia revelou atrofia do miocárdio e substituição por tecido fibroso (BENNETS; BECK; HARLEY, 1948). O diagnóstico é confirmado pela determinação dos níveis hepáticos ou séricos de cobre (RIET-CORREA, 2007).

#### **2.1.14.4 Intoxicação por plantas cianogênicas**

As plantas cianogênicas contêm como princípio ativo o ácido cianídrico (HCN), um líquido incolor, muito volátil e, que é considerado ser uma das substâncias mais tóxicas conhecidas. Quando essas plantas são ingeridas, o HCN é rapidamente absorvido pelo trato gastrointestinal, em especial, no rúmen. Em seguida, ganha à circulação sanguínea e, posteriormente, uma parte é eliminada pelos pulmões. No fígado, a maior parte é transformada em tiocianetos, substâncias pouco tóxicas que são excretadas pela urina. Contudo, a intoxicação ocorre somente quando as doses tóxicas são ingeridas em um curto espaço de tempo (2,0 a 4,0 mg de HCN/kg de peso vivo/hora). O HCN causa um quadro de anóxia aguda tecidual, que se desencadeia como resultado ao bloqueio da cadeia respiratória, ao nível da enzima citocromoxidase, que impede o aproveitamento de oxigênio pelos tecidos. Devido à rápida absorção do HCN, os sinais clínicos da intoxicação se manifestam logo após, ou mesmo durante a

ingestão da planta e podem provocar o óbito do animal em poucos segundos, com convulsões e parada respiratória. Doses menores causam respiração acelerada e mais profunda, taquicardia, mucosas visíveis inicialmente com coloração avermelhada e, depois cianóticas, tremores musculares, andar cambaleante, queda, contrações tônico-clônicas e coma (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000).

Em casos agudos, a necropsia não revela lesões significativas, exceto pela coloração vermelho-viva do sangue venoso, semelhante ao sangue arterial (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000). O exame histológico evidencia, em animais que apresentaram evolução mais longa, ou foram expostos várias vezes ao cianeto, necrose focal da substância cinzenta e branca no cérebro. Tais lesões são semelhantes àquelas descritas em casos de envenenamento por monóxido de carbono e, provavelmente, são decorrentes da hipóxia (JONES; HUNT; KING, 2000).

O diagnóstico dessa intoxicação pode ser confirmado através de análises toxicológicas capazes de detectar o HCN em fragmentos de fígado ou músculo e amostras de conteúdo ruminal (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000; HARAGUCHI, 2003). O tratamento clássico é realizado com a administração de hipossulfito de sódio, por via endovenosa, que induz a formação de metemoglobina, a qual se conjuga ao HCN e forma uma substância atóxica denominada cianometemoglobina. O HCN é liberado e fixado pelo tiosulfato para formar tiocianeto, que por sua vez é excretado pela urina (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000).

No Brasil, a intoxicação por plantas cianogênicas é menos frequente e importante do que a que ocorre pelas plantas do grupo das que causam “morte súbita” (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000). A seguir são descritas as principais plantas cianogênicas de interesse pecuário que ocorrem no país.

O gênero *Manihot* (Euphorbiaceae) engloba as plantas cianogênicas mais importante do Brasil. Dentre essas, destaca-se *Manihot esculenta* Crantz., a espécie mais conhecida e denominada popularmente por “mandioca”. Os termos “mandioca”, “macaxeira” e “aipim” são empregados para denominar as variedades pobres (mansas) em glicosídeos cianogênicos (linamarina e lotaustralina). Já as variedades “bravas” são ricas nessas substâncias e são utilizadas na fabricação de farinha de mandioca, goma e polvilho (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000). A intoxicação por *M. esculenta* em bovinos ocorre, sobretudo, sob condições de escassez de pastagens (TOKARNIA et al., 2007), quando os animais invadem áreas cultivadas com essa planta (CHEW, 1972) ou ainda após o fornecimento de raízes tuberosas aos animais, sem os devidos cuidados. São descritas ainda, outras espécies de *Manihot* silvestres, conhecidas como “maniçobas” ou, em algumas regiões, como “mandiocas-bravas”, que ocorrem em todo o país, sob a forma de árvores ou arbustos (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000). Foi demonstrado experimentalmente, que doses a partir de 2,5 g/kg e 9,3 g/kg de duas espécies silvestres, *Manihot piauhyensis* Ule. e *Manihot glaziovii* Muell Arg., respectivamente, são fatais para bovinos (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 1994).

*Prunus sphaerocarpa* (Rosaceae), conhecida como “pessegueiro-bravo”, é uma planta cianogênica encontrada nas Regiões Sudeste e Sul do país, cujas folhas são ricas no glicosídeo cianogênico amigdalina. Sob condições naturais, a intoxicação por essa planta foi descrita em bovinos, no Estado de São Paulo e Santa Catarina (SAAD; CAMARGO, 1967; GAVA et al., 1992), em caprinos no Estado de São Paulo (SAAD; CAMARGO, 1967) e, reproduzida experimentalmente em caprinos (SAAD; CAMARGO, 1967). Outros autores comprovaram através de experimentos em bovinos, a toxidez de *P. selowii* (= *P. sphaerocarpa*), que era incriminada por criadores e veterinários, como a planta responsável por frequentes mortes do

gado em Santa Catarina. Doses entre 3,5 g/kg e 5,0 g/kg de folhas frescas foram letais. O óbito ocorreu entre 48 minutos a 4 horas e 50 minutos após a administração da planta (GAVA et al., 1992).

*Piptadenia macrocarpa* Benth. (= *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan) é uma árvore da família Leguminosae Mimosoidea, conhecida pelo nome popular de “angico-preto”, que ocorre em todo Nordeste (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000). Tokarnia et al. (1999) reproduziram experimentalmente, em bovinos, a intoxicação por *P. macrocarpa* e, verificaram que doses a partir de 13,9 g/kg foram letais. A evolução variou entre 47 minutos a 6 horas e 36 minutos.

*Piptadenia viridiflora* (Kunth.) Benth. (Leguminosae Mimosoidea), é uma árvore conhecida popularmente como “espinheiro” ou “surucucu” que ocorre no Oeste da Bahia (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000). Estudos experimentais, realizados por Tokarnia et al. (1999) em bovinos, com o intuito de comprovar a toxidez que era atribuída a essa planta, por alguns criadores de gado da Bahia, demonstraram que *P. viridiflora* induz um quadro clínico-patológico semelhante ao observado na intoxicação por *P. macrocarpa*. Doses de 10 g/kg e 14,1 g/kg foram capazes de provocar sintomas e a morte dos animais. A evolução da intoxicação variou de 3 horas e 35 minutos a 5 horas e 10 minutos.

*Sorghum vulgare* Pers. e outras gramíneas tóxicas tornam-se perigosas, especialmente, quando em brotação ou quando fatores que impedem seu pleno desenvolvimento ou provocam seu murchamento, como estiagem, geadas e pisoteio, predispõem o aparecimento de altas concentrações de glicosídeos cianogênicos ou a liberação de HCN. Dentre essas gramíneas, as mais conhecidas são *Cynodon*, *Triglochin* e *Sorghum*. A intoxicação por tais gramíneas, em geral, ocorrem 2 a 3 horas após a introdução dos animais na pastagem (HENRICI, 1926). Cabe ressaltar que, embora existam diversas espécies de *S. vulgare*, apenas algumas são tóxicas (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000). No Brasil, são escassos os relatos de intoxicações naturais por essas gramíneas. De fato, há apenas dois surtos de intoxicação cianídrica em bovinos mantidos em pastagens de *Cynodon* sp. (“tifton 68”), que foram recentemente descritos em Santa Catarina (GAVA et al., 1998a) e outro por *Sorghum halepense* (L.) Pers. relatado no município de Santa Luzia, semi-árido da Paraíba (NÓBREGA et al., 2006). Gava et al. (1998a) reproduziram experimentalmente a intoxicação *Cynodon* sp., através da administração de folhas verdes da planta, por via oral, a bezerros e, verificaram que a dose de 8,0 g/kg foi capaz de provocar sintomas e a morte dos animais. No surto de intoxicação por *S. halepense*, dois bovinos de nove, introduzidos em pasto na fase de rebrota, morreram. À necropsia foram observados congestão e cianose das mucosas, musculatura escura, pulmão com petéquias e edema, além das folhas das plantas no rúmen. O teste do papel picro-sódico resultou positivo (NÓBREGA et al., 2006).

#### **2.1.14.5 Intoxicação por *Ricinus communis* (folhas e pericarpo)**

*Ricinus communis* L., conhecido popularmente como “mamona” ou “carrapateira”, é um arbusto da família Euphorbiaceae que ocorre, sob forma espontânea, em todo o país, além de ser cultivada em algumas regiões. Sob condições naturais, a intoxicação pelas folhas só é descrita em bovinos (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000). A ingestão das folhas, pericarpo ou ambos causam sintomas, predominantemente, neuromusculares (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000). A ingestão da planta, provavelmente, ocorre sob condições de fome. De fato, há relatos de intoxicações consequentes à invasão de áreas onde a planta é cultivada (TORRES; FERNANDES, 1941). A dose letal das folhas frescas é 20 g/kg (DÖBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1981; TOKARNIA; DÖBEREINER; CANELLA, 1975).

Os primeiros sintomas de intoxicação pelas folhas ocorrem entre três e seis horas após o início da ingestão da planta. A evolução é aguda e, em geral, a morte sobrevém 4 a 16 horas após o início dos sintomas. Entretanto, na intoxicação pelo pericarpo, os primeiros sintomas aparecem entre 1 hora e 45 minutos a 4 horas e 30 minutos após a sua ingestão e, a evolução varia de 1 hora e 30 minutos a 4 horas e 40 minutos após iniciados os sintomas (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000). Clinicamente verificam-se andar desequilibrado, dificuldade para entrar em decúbito após curta marcha, tremores musculares, sialorréia, movimentos de mastigação e, às vezes, eructação excessiva. Os que apresentam sintomas graves morrem rapidamente. À necropsia, não são observadas alterações significativas. Contudo, animais intoxicados pelas folhas da planta apresentam rápido aparecimento de pseudo-timpanismo após a morte. Ao exame histopatológico verifica-se, sobretudo no caso da ingestão das folhas, leve a acentuada vacuolização do parênquima hepático (Sudam III negativo) (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000).

#### **2.1.14.6 Intoxicação por plantas que causam “morte súbita”**

A intoxicação por plantas brasileiras que causam “morte súbita” em bovinos e búfalos deve ser considerada o principal diagnóstico diferencial da intoxicação por MF. Cabe ressaltar que, até o momento, não se conhece a intoxicação por essas plantas, sob condições naturais, nas demais espécies de animais de produção.

### **2.2 Ocorrência Natural do MF em Plantas Tóxicas de Interesse Pecuário**

O MF foi isolado de diversas plantas na África do Sul (MARAIS, 1944; VICKERY; VICKERY; ASHU, 1973), Austrália (OELRICHS; McEWAN, 1962; McEWAN, 1964; APLIN, 1967; EVERIST, 1974; BARON et al., 1987) e Brasil (OLIVEIRA, 1963; MORAES-MOREAU et al., 1995; KREBS; KEMMERLING; HABERMEHL, 1994; CUNHA, 2008), cuja ingestão determina a morte com evolução superaguda em bovinos. Há ainda, fortes indícios de que essa substância também seja o princípio ativo das outras plantas tóxicas brasileiras que também determinam a chamada “síndrome da morte súbita” (SDCP - *Sudden death causing plants*). Acredita-se que, pelo menos 600.000 bovinos, morrem anualmente no Brasil intoxicados por SDCP (TOKARNIA, comunicação pessoal).

#### **2.2.1 Plantas que contêm MF**

No Brasil, o MF foi identificado por cromatografia em camada delgada (CCD) nas folhas de *Palicourea marcgravii* (OLIVEIRA, 1963; MORAES-MOREAU et al., 1995) e, através de espectroscopia por ressonância magnética nuclear flúor<sup>19</sup> (RMN<sup>19</sup>F) tanto em *P. marcgravii* (KREBS; KEMMERLING; HABERMEHL, 1994; MORAES-MOREAU et al., 1995), quanto em *Arrabidaea bilabiata* (KREBS; KEMMERLING; HABERMEHL, 1994). Cunha (2008) tentou identificar o MF em extratos de *Mascagnia rigida* através de CCD e CLAE e detectou a presença de pico cromatográfico com tempo similar ao observado para MF, entretanto, ressalta que “paira a dúvida se realmente o pico observado confirma, de forma definitiva, a presença de fluoroacetato no extrato da planta”, uma vez que segundo a autora “por esta técnica não pode ser descartada a presença de interferentes com tempo de retenção similar”.

Na África do Sul, esse composto foi isolado e identificado por Marais (1944) em *Dichapetalum cymosum* e, posteriormente, em diversas outras espécies de plantas desse gênero

(VICKERY; VICKERY, 1972; VICKERY; VICKERY; ASHU, 1973; NWUDE; PARSONS; ADANDI, 1977). Na Austrália, outros autores identificaram o MF por cromatografia gasosa em *Acacia georginae* (OELRICHS; McEWAN, 1961; OELRICHS; McEWAN, 1962) e *Gastrolobium grandiflorum* (McEWAN, 1964). Estudos posteriores detectaram e quantificaram o MF por espectroscopia de RMN<sup>19</sup>F em *Oxylobium* spp., *A. georginae* e *Gastrolobium* spp. (BARON et al., 1987), e por espectroscopia infra-vermelha em *A. georginae* (OELRICHS; McEWAN, 1962) e *G. grandiflorum* (McEWAN, 1964).

### **2.2.2 Plantas que provavelmente contêm MF**

Embora ainda não tenham sido desenvolvidos estudos com a finalidade de detectar a possível presença do MF nas outras nove plantas brasileiras que causam “morte súbita” (*P. grandiflora*, *P. juruana*, *P. aeneofusca*, *Arrabidaea japurensis*, *Pseudocalymma elegans*, *Mascagnia elegans*, *M. pubiflora*, *M. exotropa* e *M. aff. rigida*) é provável, que esse composto também seja o princípio tóxico determinante dos sinais clínicos e da morte dos animais intoxicados por essas plantas. Na Tabela 6, encontra-se resumido o quadro clínico-patológico observados nos casos de intoxicação por essas plantas.

**Tabela 6.** Aspectos clínico-patológicos da intoxicação experimental pelas outras nove plantas tóxicas brasileiras que causam “morte súbita” em bovinos e, que provavelmente, contêm MF como princípio ativo (continua).

	Planta	Dose letal (g/kg)	Tempo entre a administração e o óbito	Quadro clínico	Achados de necropsia	Achados histopatológicos
Família Rubiaceae	<i>Palicourea aeneofusca</i>	0,75	12h a 24h	Cai em decúbito lateral e morre.	Negativos	Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais dos rins e vacuolização de hepatócitos.
	<i>Palicourea juruana</i>	2,0	11h 50min a 13h 46min	Dispnéia, taquicardia, queda, perda do controle dos movimentos, decúbito lateral, movimentos de pedalagem, mugidos e morte.	Negativos	Necrose hepática e necrose do miocárdio (em um bovino). Leve a moderada degeneração hidrópico-vacuolar dos hepatócitos.
	<i>Palicourea grandiflora</i>	1,0 e 2,0	Até 24 h	Relutância em mover-se, decúbito esternal, decúbito lateral, opistótono, movimentos de pedalagem, mugidos e morte.	Negativos	Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear.
Família Bignoniaceae	<i>Arrabidaea japurensis</i>	1,5 a 10	6h a 22h	Andar cambaleante, tremores musculares, súbita perda de equilíbrio, deita-se repetidas vezes, dispnéia, taquicardia, pulso venoso positivo, decúbito esterno-abdominal, decúbito lateral, movimentos de pedalagem, mugidos e morte.	Negativos	Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear.
	<i>Pseudocalymma elegans</i>	2,5 a 10	12h a 44h	Andar rígido, instabilidade, tremores musculares, deita-se rápido ou cai em decúbito esternal com membros posteriores esticados, opistótono, nistagmo e taquicardia.	Ocasionalmente ressecamento do conteúdo do omaso e reto.	Vacuolização citoplasmática de hepatócitos e miocárdio. Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear.

Tabela adaptada de Pinto (2008).

**Tabela 6.** Continuação.

Família Malpighiaceae	Planta	Dose letal (g/kg)	Tempo entre a administração e o óbito	Quadro clínico	Achados de necropsia	Achados histopatológicos
	<i>Mascagnia elegans</i>	Indeterminada	Indeterminada	Queda ao solo, taquicardia, micções frequentes, ligeira sobrecarga ruminal, falta de apetite, tremores musculares, movimentos de pedalagem e morte.	Negativos	Não há dados.
	<i>Mascagnia pubiflora</i>	5,0 a 20	16h 48h	Relutância em mover-se, andar rígido, tremores musculares, micção frequente, deita-se ou cai quando movimentado, decúbito lateral, movimentos de pedalagem, mugidos e morte.	Negativos	Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear.
	<i>Mascagnia aff. rigida</i>	0,625 a 2,5	17h 45min a 37h 45min	Queda em decúbito esterno-abdominal, depois decúbito lateral, movimentos desordenados com a cabeça, tremores musculares, pulso venoso positivo, dispnéia, movimentos de pedalagem, mugidos, respiração espaçada ou forçada, movimentos de pedalagem e morte.	Em administrações repetidas, observaram-se áreas branco-acinzentadas na região do músculo papilar.	Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear. Em administrações repetidas, processo degenerativo, necrótico, proliferativo e inflamatório na região do músculo papilar.
	<i>Mascagnia exotropica</i>	5,0 a 10	14h a 23h	Cansaço, jugular ingurgitada, tremores, taquicardia, decúbito, morte.	Coloração avermelhada na mucosa do intestino delgado e edema da subserosa da parede da vesícula biliar.	Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear, congestão hepática centrolobular e hemorragias na mucosa do intestino delgado.

Tabela adaptada de Pinto (2008).



### 2.3 Histórico dos Estudos que Visaram Identificar o Princípio Tóxico de *Palicourea marcgravii*

Dentre as diversas plantas tóxicas brasileiras, *Palicourea marcgravii* St. Hil. (Figura 6), recebeu ao longo de décadas, atenção de vários pesquisadores. Foi a primeira planta tóxica brasileira estudada (HOEHNE, 1932; PACHECO; CARNEIRO, 1932a, 1932b; DÖBEREINER; TOKARNIA, 1959) e tem sido, até os dias de hoje, objeto de diversos estudos relacionados à presença de substâncias tóxicas ou farmacológicas (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000), possivelmente por atribuírem a ela uma grande mortalidade de bovinos (GAGNIN; MARAVALHAS, 1969) e ser a planta tóxica mais importante do Brasil (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000). Embora vários estudos tenham sido realizados com o intuito de elucidar o mecanismo toxicológico de *P. marcgravii*, por muito tempo, houve divergências, entre os pesquisadores, na comprovação do princípio tóxico determinante dos sintomas e da morte dos animais e, ainda hoje, persistem incertezas. Na Tabela 7 encontram-se descritas, de forma resumida, diversas substâncias já isoladas de *P. marcgravii*.

**Tabela 7.** Substâncias isoladas de *Palicourea marcgravii*

Substâncias isoladas	Referências
Monofluoroacetato de sódio	Oliveira (1963); Krebs; Kemmerling e Habermehl (1994); Moraes-Moreau et al. (1995).
Alcalóides	Guimarães (1934); Barnes e Gilbert (1960); Gagnin e Maravalhas (1969); Morita et al. (1989).
Saponinas	Guimarães (1934); Mello e Fernandes (1940); Barnes e Gilbert (1960).
Ácidos málico, palicúrico e miotônico	Peckolt (1868).
Salicilato de metila e cristais de oxalato de cálcio	Coelho et al. (2007).
Tanóide	Guimarães (1934).
Ácido salicílico e amida do ácido o-metoxibenzóico	Cascon e Mors (1962).
Cafeína	Górniak (1986).
Alcalóide N-metiltiramina	Cascon e Mors (1962); Kemmerling (1996).
Alcalóide 2-metiltetrahydro- $\beta$ -carbolina	Kemmerling (1996).

Desde o século XIX, já se comentava sobre a toxidez de *P. marcgravii* (SAINT-HILAIRE, 1824; HOEHNE, 1932) e havia, inclusive, referência no pioneiro livro de Martius, *Systema materiae medicae vegetabilis brasiliensis*, a respeito de suas propriedades tóxicas (MARTIUS, 1843). Tal toxicidade, também era popularmente conhecida a longa data, uma vez que há, na literatura, registros datados do ano de 1843 que esclareciam a origem do nome popular, erva-de-rato, atribuído a essa planta, ao fato dos antigos utilizarem seus frutos triturados e misturados ao azeite ou a outros alimentos como raticida (MARTIUS, 1843; HOEHNE, 1939). Além disso, acredita-se que os “feiticeiros dos mucambos” [sic] empregavam essa planta no extermínio, tido como infalível, de seres humanos, por nefrose e degeneração cardíaca (MELLO; FERNADES, 1940).



**Figura 6.** Aspecto botânico de *Palicourea marcgravii* (Fonte: MARTIUS, 1915).

Em 1868, Peckolt, um botânico e farmacêutico germânico, realizou análises químicas detalhadas em *P. marcgravii* e relatou ter encontrado em 1000 g da planta 0,009 g de substância volátil (aldeído), 0,005 g de ácido miotônico (venenoso), 0,655 g de ácido palicúrico cristalizado, 0,060 g de palicurina cristalizada (sem efeito tóxico), 0,180 g de palicurato de cal, 1,839 g de substância resinosa, 1,360 g de ácido málico e sais de cloro, 1,800 g de matéria extrativa de gosto enjoativo, 0,400 g de matéria extrativa amarga, 22,327 g de matéria extrativa sacarina, 0,027 g de substância corante amarela, 8,727 g de nitrato de potassa, 2,736 g de cloreto de potassa e 959,848 g de resina, extrato, fibra e água. O pesquisador afirmou que o princípio tóxico dessa planta tratava-se de um ácido volátil, denominado de ácido miotônico. Com base nesta afirmação, Peckolt questionou a proposta feita por alguns autores da época, de que *P. marcgravii* seria um substituto da *digitalis*, pois segundo o autor, tal princípio tóxico, por ser volátil, desapareceria durante o dessecamento da planta.

No ano de 1909 foi realizada a primeira constatação da toxidez de *P. marcgravii* para animais de laboratório, através de ensaios tóxicos experimentais, quando se verificou que o princípio tóxico dessa planta atuava sobre os nervos motores e músculos estriados e causava perda de excitabilidade, o que levou o autor a sugerir uma semelhança entre a ação fisiológica desse princípio ativo com o *curare* (BAPTISTA-LACERDA, 1909).

Mais tarde, foram realizados experimentos de maior amplitude, composto inicialmente por estudos preliminares, seguido por investigações meticolosas, com a finalidade de verificar diversos aspectos relacionados à toxidez de *P. marcgravii* para animais domésticos (PACHECO; CARNEIRO, 1932a). Nesse estudo, foi comprovada sua toxidez para bovinos, caprinos, equinos, cães, coelhos, cobaios e ratos. Verificou-se que a planta dessecada mantém sua toxidez e que o fruto é a parte mais tóxica da planta. Observou-se ainda, que o princípio tóxico de *P. marcgravii* é, prontamente, solúvel em água fria, possui a propriedade de fixação e acumulação no organismo. Tudo indica que o princípio ativo da planta se fixa eletivamente no músculo cardíaco e em seguida em outros órgãos (PACHECO; CARNEIRO, 1932a). Em outro trabalho publicado por esses autores, foi sugerido que o princípio tóxico de *P. marcgravii* atuava diretamente sobre o coração e que a morte repentina sobrevinha por súbita parada cardíaca (PACHECO; CARNEIRO, 1932b). Além disso, naquela época, esses autores já ressaltavam que o desenvolvimento de um antídoto não tinha aplicabilidade na prática, uma vez que não haveria tempo hábil para sua administração.

No intuito de identificar o princípio tóxico de *P. marcgravii*, foi realizado um estudo abrangente acerca da composição química dessa planta, através de uma série de análises químicas de suas folhas e raízes. Inicialmente, essas análises foram baseadas na procura por alcalóides, pois, já se sabia naquela época, que as plantas desta família (Rubiaceae) eram ricas em tais substâncias. De fato, verificou-se a presença dos alcalóides emetina, psicotrina e cefaelina, tanto nas folhas quanto raízes da planta, porém em maior quantidade nas raízes. Entretanto, apesar dessas substâncias isoladas serem potencialmente nocivas, elas não seriam responsáveis pela acentuada toxidez da planta, uma vez que, esses alcalóides estavam presentes em maior quantidade nas raízes do que nas folhas, e, segundo ela, as raízes de *P. marcgravii* são menos tóxicas do que as folhas. Observou-se ainda, que a concentração dos alcalóides na planta não era constante e que estava sujeita a variações, conforme a época do ano e, possivelmente, ao grau de desenvolvimento das raízes. Devido ao fato de ter sido utilizado, neste trabalho, sempre a planta seca não foi possível identificar o ácido miotônico incriminado por Peckolt (1868) como o princípio tóxico de *P. marcgravii* (GUIMARÃES, 1934). Sugere-se ainda, que a palicurina, provavelmente, seria a mistura de alcalóides, e, que a reação ácida de *P. marcgravii* seria decorrente da saponina ácida e não dos ácidos orgânicos, que teriam sido denominados por

Peckolt como palicúrico. Foi identificada ainda, a presença de um tanóide semelhante ao existente na raiz da ipeca. Já se deduzia, na época, que o princípio tóxico dessa planta era solúvel em água e insolúvel em solventes neutros de acordo com estudos do Laboratório do Instituto Biológico. Ao fim de várias tentativas sem êxito, foi obtido um extrato tóxico das folhas dessa planta, e, com base neste achado afirmou-se que o princípio tóxico de *P. marcgravii*, determinante da morte dos animais, trata-se de uma saponina ácida, uma glicósido, presente em maior quantidade nas folhas da planta do que na raiz (GUIMARÃES, 1934). Alguns anos depois, Hoehne (1939) que partilhava da mesma opinião de Guimarães (1934), afirma que a planta não perde a toxidez após a dessecação e que o seu princípio tóxico, indubitavelmente, seria uma glicósido e não uma essência volátil inodora.

Estudos adicionais, com a finalidade de verificar a toxidez de *Palicourea longipedunculata* e identificar o seu princípio tóxico foram realizados por Mello e Fernandes (1940); no entanto, sabe-se hoje que, naquela ocasião, a planta utilizada era, na verdade *P. marcgravii*, conforme foi demonstrado posteriormente por Canela et al. (1969). Apesar desse equívoco, os autores realizaram estudos interessantes em relação às propriedades tóxicas da planta e identificaram a presença de traços de alcalóides e a existência de uma saponina neutra, de elevado poder hemolítico e alto índice de espuma, porém não conseguiram demonstrar a presença de emetina. Experimentos subsequentes, demonstraram que os extratos contendo essa saponina foram tóxicos para cobaias. Contudo, Mello e Fernandes (1940) concluíram que o óbito desses animais era resultado da seletividade dessas saponinas pelo sistema nervoso, principalmente, sobre o bulbo. Desta forma, esses autores incriminaram a ação tóxica da planta, hoje sabidamente *P. marcgravii*, exclusivamente à presença de tal saponina.

Outros trabalhos foram realizados em 1960 visando a investigação de substâncias químicas em diversas plantas brasileiras. No estudo desenvolvido com *P. marcgravii* confirmou-se a presença de alcalóides terciários e saponinas, porém, ambas as substâncias foram encontradas em pequenas quantidades (BARNES; GILBERT, 1960).

Em estudos subsequentes de investigação química, com o intuito de identificar substâncias farmacológicas ativas nas folhas de *P. marcgravii*, foram isolados o ácido salicílico, a amida do ácido o-metoxibenzoico e N-metiltiramina (CASCON; MORS, 1962). Os autores confirmaram ainda, a existência de alcalóides na fração básica do extrato das folhas da planta, conforme havia sido descrito anteriormente por Guimarães (1934). Por outro lado, os mesmos autores, verificaram através da experimentação em coelhos, que os extratos aquosos e alcoólicos das sementes dessa planta, que a nosso ver tratavam-se dos frutos, as quais conteriam tais saponinas, não eram tóxicos e, que a toxidez permanecia no resíduo das sementes moídas [sic]. Deste modo, o autor conclui que as saponinas, anteriormente incriminadas por outros autores como responsáveis pela toxicidade da planta, não seriam, de fato, o verdadeiro princípio tóxico envolvido na morte dos animais, nem as outras três substâncias por eles isoladas da planta (CASCON; MORS, 1962).

Oliveira (1963) ao estudar *P. marcgravii*, sob o ponto de vista toxicológico, isolou de suas folhas o monofluoroacetato de sódio, por CCD e realizou ainda, testes biológicos em cobaias durante todo o processo de isolamento do MF; ficou constatado que os sintomas apresentados pelas cobaias de seu estudo eram compatíveis aos descritos na literatura para animais intoxicados por MF. Desta maneira, o MF, foi atribuído como o princípio tóxico de *P. marcgravii* responsável pelo quadro clínico superagudo nos casos de intoxicação pela planta. Por outro lado, Habermehl (1986) constatou não ser o MF, o responsável pelos sinais clínicos e morte dos animais intoxicados por *P. marcgravii*. Mais tarde, o mesmo autor, relata não ter obtido sucesso

na detecção da presença do MF nessa planta, através da cromatografia líquida de alta pressão (HABERMEHL, 1988).

Algum tempo depois, Vianna (1968) relatou que os princípios ativos, determinantes da toxidez de *P. marcgravii*, ainda não eram bem conhecidos e, inclusive, que alguns autores renomados negavam sua presença, enquanto, outros a confirmam, e sugeriu que, provavelmente, essa planta fosse eventualmente tóxica, o que explicaria, portanto, a divergência que persiste entre os pesquisadores a cerca do princípio tóxico.

No ano seguinte, novos estudos foram realizados por Gagnin e Maravalhas (1969) com a finalidade de verificar a ocorrência de alcalóides em quatro espécies do gênero *Palicourea* (*P. marcgravii*, *P. coriacea*, *P. squarrosa* e *P. rigida*). Nesse estudo, foi demonstrado o teor de alcalóides totais em 100 g de diversas partes da planta seca e, obtiveram-se, desta maneira, os seguintes resultados: 0,124 g no fruto, 0,064 g nas folhas, 0,024 g na flor, 0,006 g na raiz e 0,005 g no caule, através de métodos cromatográficos. Além disso, também foi identificada a presença da emetina, como o único alcalóide constante, nas quatro espécies de *Palicourea* estudadas (GAGNIN; MARAVALHAS, 1969). Esses dados confirmam os achados anteriormente descritos por Guimarães (1934), Barnes e Gilbert, (1960) e Cascon e Mors (1962), que também verificaram a presença de alcalóides em *P. marcgravii*. Por outro lado, em relação à distribuição dos alcalóides na planta, Gagnin e Maravalhas (1969) obtiveram resultado oposto ao observado por Guimarães (1934), que encontrou maior concentração de alcalóides nas raízes do que nas folhas. Além disso, os teores de alcalóides encontrados nesse trabalho foram inferiores aos encontrados por Guimarães (1934), o que, segundo os autores, poderia ser justificado pela idade da planta utilizada, uma vez que, à medida que a planta envelhece, seu teor em alcalóides diminui. Os autores afirmam ser provável, que condições ecológicas possam estar relacionadas à maior ou menor concentração de alcalóides nas plantas.

Gagnin e Maravalhas (1969) relataram ainda que, apesar de *P. marcgravii* ser a espécie mais estudada desse gênero, os trabalhos a ela relacionados, em sua maioria, são confusos e não alcançam conclusões definitivas; e acreditam que, parte dessas contradições, tenha origem na coleta da planta de forma equivocada. No mesmo ano, Corrêa (1969) afirmou que o princípio tóxico de *P. marcgravii*, era o ácido miotônico, o qual havia sido inicialmente proposto por Peckolt (1868). Porém, em seguida, o autor faz referência ao trabalho e às conclusões de Guimarães (1934), no qual, afirma-se que uma saponina ácida seria o princípio tóxico de *P. marcgravii*. Desta forma, Corrêa (1969) não expressa de fato sua opinião sobre qual seria o verdadeiro princípio tóxico da planta.

Alguns anos depois, foram realizados estudos analíticos em diversas espécies de plantas africanas, australianas e brasileiras com o intuito de determinar a concentração de possíveis compostos fluorados. Verificou-se que nas plantas africanas da família Dichapetalaceae, o teor de flúor é muito maior nos caules e raízes do que nas folhas da planta. Por outro lado, o oposto foi observado nas plantas australianas (*Gastrolobium* spp. e *Oxylobium* spp.) e brasileiras (*Palicourea marcgravii*). Além disso, foi demonstrado que havia altas concentrações de flúor orgânico nos frutos da maioria das espécies analisadas, exceto em *Acacia georginaea* (HALL, 1972).

Em 1986, Tokarnia e Döbereiner com a finalidade de complementar o conhecimento acerca da toxidez de *P. marcgravii* em bovinos, compilaram todos os dados de seus estudos desde 1959. Tais dados eram constituídos por estudos experimentais sobre a intoxicação por essa planta em bovinos, bem como dos casos espontâneos de intoxicação por eles diagnosticados. Desta forma, afirmaram não ser possível, até então, concluir através de seus estudos, qual o mecanismo de ação de *P. marcgravii* para causar o óbito dos animais e, presumiram que o(s) seus(s)

princípio(s) tóxico(s) interfere(m) no funcionamento do coração e que o óbito sobrevém por colapso cardíaco, conseqüente à insuficiência cardíaca aguda.

No mesmo ano, Górnjak (1986) estudou os efeitos tóxicos de *P. marcgravii* em animais de laboratório e, adicionalmente, realizou análises químicas das folhas da planta. Nessas análises, foi identificada a presença de alcalóides xantínicos, inclusive cafeína. A autora sugeriu que a cafeína seria um princípio tóxico de *P. marcgravii*, e que, tal substância, poderia estar envolvida com a convulsão, morte ou ambas. Além disso, foi proposto que essa planta teria pelo menos dois princípios tóxicos, um com ação similar a um neuroléptico e outro, que seria a cafeína, estaria envolvido com o desenvolvimento da convulsão. Dois anos depois, Górnjak (1988) em estudos experimentais com *P. marcgravii* em ratos, com frações aquosas e clorofórmicas dessa planta, verificou a presença de princípios ativos distintos nessas frações, e concluiu que os responsáveis pela convulsão, morte ou ambos, estão presentes na fração aquosa e que tanto o MF, quanto a cafeína, seriam as substâncias hidrossolúveis que poderiam contribuir no desencadeamento do quadro de intoxicação.

Algum tempo depois, foram realizados estudos experimentais em ratos visando comparar o quadro clínico decorrente da intoxicação aguda pelo extrato cru de *P. marcgravii* com a intoxicação por MF. Os sinais neurotóxicos evidenciados nos experimentos com a planta e com o MF foram semelhantes; os efeitos neurotóxicos da planta seriam decorrentes da presença do MF em suas folhas (ECKSCHMIDT et al., 1989).

Em outros estudos relacionados à composição química de *P. marcgravii*, foi isolado um alcalóide indólico glicosilado das folhas da planta, denominado palicosídeo (MORITA et al., 1989).

Com o objetivo de confirmar que o MF é o princípio tóxico presente nas folhas de *P. marcgravii*, responsável pela convulsão e morte dos animais intoxicados, Moraes em 1993 realizou diversas análises químicas e ensaios biológicos em ratos. Apesar de várias substâncias já terem sido identificadas nas folhas dessa planta, ainda não tinha sido demonstrado de forma inequívoca, até aquele momento, a relação entre tais compostos com os supostos efeitos tóxicos que causariam aos animais. Inicialmente, fracionou-se o extrato bruto das folhas dessa planta e, em seguida, verificou-se que dentre as frações testadas, apenas o resíduo aquoso reproduziu tanto convulsões quanto a mortes dos animais. Em experimentos subsequentes verificou-se, através de bioensaios, que os sintomas desencadeados na intoxicação por MF e pelo extrato bruto e aquoso de *P. marcgravii* eram semelhantes. Foi realizada ainda a identificação química do MF na fração que se mostrou experimentalmente tóxica (resíduo aquoso), utilizando-se espectroscopia RMN<sup>19</sup>F e também por CCD; conclui-se que o MF, presente nas folhas da planta é o princípio ativo determinante das convulsões e mortes dos animais.

Krebs, Kemmerling e Habermehl (1994) identificaram o MF nas folhas de *P. marcgravii* e *Arrabidaea bilabiata* através de métodos analíticos e por espectroscopia de RMN-F<sup>19</sup>.

Alguns anos depois, dois alcalóides isolados de *P. marcgravii*, N-metiltiramina e 2-metiltetraidro- $\beta$ -carbolina (2-Me THBC), foram atribuídos como prováveis substâncias responsáveis pela toxidez da planta, além do MF. Ambos os alcalóides potencializariam os efeitos tóxicos do MF, através do bloqueio da atividade da monoamina-oxidase (MAO), enzima responsável pela degradação das catecolaminas. Tal bloqueio enzimático eleva a concentração de adrenalina e noradrenalina sanguínea e conseqüentemente, gera intensa estimulação dos receptores  $\beta$ -adrenérgicos do sistema simpático e, como resultado, há aumento da pressão arterial e da demanda energética, principalmente, das células cardíacas. Em suma, esses alcalóides estimulam por via adrenérgica o ciclo de Krebs, pois, aumentam a demanda por ATP, ao passo que, o MF o bloqueia. Sob essas condições, o MF seria rapidamente distribuído no organismo e

transformado em seu metabólito tóxico, o fluorocitrato, que bloqueia o ciclo de Krebs (KEMMERLING, 1996). A presença desses alcalóides em *P. marcgravii* permite esclarecer as diferenças no período de evolução observado entre ruminantes e equinos intoxicados experimentalmente com doses similares da planta. Desta forma, a ocorrência de “morte súbita” em ruminantes poderia ser atribuída à maior absorção desses dois alcalóides pelo trato gastrointestinal, uma vez que, encontram-se desprotonados e mais apolares no rúmen; por outro lado, a evolução mais longa observada nos equinos, se justificaria pelo menor grau de absorção desses alcalóides, em decorrência de sua protonação no estômago, devido ao pH extremamente ácido (KEMMERLING, 1996).

Pontual (2000) identificou o MF por CCD do macerado de vísceras de coelhos intoxicados experimentalmente por *P. marcgravii*. Adicionalmente, foi constatada a presença do MF e de cumarinas, bem como a ausência de saponinas e de glicosídeos cianogênicos, através de estudos fitoquímicos a partir de amostras da planta utilizada nos experimentos.

Em estudos mais recentes, Coelho et al. (2007) isolaram, além do MF, cristais de oxalato de cálcio e salicilato de metila das folhas de *P. longiflora*, consideraram tais substâncias como princípios ativos da planta e levantaram a hipótese da associação dessas duas substâncias com o MF no desenvolvimento do quadro toxicológico das plantas desse gênero. Sugerem ainda, que o MF e o salicilato de metila poderiam ser introduzidos na pele e faringe dos animais, em consequência da injúria provocada pela ação mecânica dos cristais de oxalato de cálcio.

Frente ao exposto, fica claro que os pesquisadores em estudos contemporâneos, apesar de algumas divergências e, por vezes, falta de consenso, de uma maneira geral, atribuem o quadro clínico-patológico de evolução superaguda observado na intoxicação por *P. marcgravii*, à ação do MF presente nas folhas e frutos da planta.

## **2.4 Aspectos Gerais e Clínico-patológicos da Intoxicação por Plantas que Contêm MF**

### **2.4.1 *Palicourea marcgravii***

*Palicourea marcgravii* St. Hil. (Rubiaceae), popularmente conhecida como “cafezinho”, “erva-de-rato”, “café-bravo”, “roxa”, “roxinha”, “roxona” e “vick” é a planta tóxica para herbívoros mais importante do país devido à sua boa palatabilidade, ampla distribuição (encontrada por quase todo o Brasil, exceto na Região Sul e no Sertão do Nordeste), alta toxidez (0,6 g/kg) e efeito acumulativo. Na Região Amazônica, ela é responsável por 80% das mortes em bovinos causadas por plantas tóxicas. Possui como habitat regiões de boa pluviosidade e terra firme. Sob condições naturais são afetados, sobretudo bovinos e, com menor frequência, búfalos (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000; TOKARNIA et al., 2007). Não existem relatos da intoxicação por *P. marcgravii* em equinos e ovinos e, há raros históricos sugestivos dessa intoxicação em caprinos (TOKARNIA et al., 2007). Experimentalmente, têm sido intoxicados, por via oral, bovinos (PACHECO; CARNEIRO, 1932a; DÖBEREINER; TOKARNIA, 1959; CAMARGO, 1962; COSTA et al., 1984; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1986; BARBOSA et al., 2003); búfalos (BARBOSA et al., 2003), ovinos (TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1986), caprinos (PACHECO; CARNEIRO, 1932a; TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1991), equinos (PACHECO; CARNEIRO, 1932a; TOKARNIA et al., 1993), cães (PACHECO; CARNEIRO, 1932a) coelhos (PACHECO; CARNEIRO 1932a; PEIXOTO et al., 1987; TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 1994), ratos (PACHECO; CARNEIRO, 1932a; GÓRNIK, 1986, 1988; ECKSCHMIDT et al., 1989; MORAES, 1993; PINTO et al., 2008),

camundongos, hamsters (GÓRNIAK, 1986) e cobaias (PACHECO; CARNEIRO 1932a; GÓRNIAK, 1986).

Seus frutos são mais tóxicos que as folhas (PACHECO; CARNEIRO 1932a; TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 1994) e a planta quando dessecada não perde a toxidez (PEIXOTO et al., 1987).

Tokarnia, Peixoto e Döbereiner (1986) realizaram experimentos com ovinos no intuito de verificar a toxidez de *P. marcgravii* para essa espécie, complementar os estudos sobre o efeito acumulativo da planta, bem como avaliar o desenvolvimento de tolerância/imunidade ou sensibilidade pelos animais. Neste estudo, verificaram-se que a administração da planta fresca recém-colhida em doses únicas de 0,125 mg/kg e 0,25 mg/kg não causaram sinais clínicos de intoxicação, enquanto que doses de 0,5 g/kg e 1,0 g/kg foram letais. Nos experimentos com folhas dessecadas a dose letal correspondeu a 0,75-1,0 g/kg da folha fresca. Administrações diárias de frações da dose letal da folha dessecada (1/2,5; 1/5; 1/10 e 1/20) revelaram, em uma série de experimentos, que a planta tem efeito acumulativo acentuado até a dose diária de 1/10 da dose letal, e leve na dose diária de 1/20. Entretanto, em outra série de experimentos, verificaram-se efeito acumulativo leve até a dose diária de 1/5 da dose letal. Adicionalmente, demonstrou-se que a administração de uma dose letal única da planta, aos sobreviventes desses últimos experimentos, não induz tolerância ou imunidade, nem aumento da sensibilidade dos ovinos à toxidez da planta. O quadro clínico-patológico apresentado pelos ovinos foi de “morte súbita”, sendo os sinais clínicos e a morte precipitados ou provocados pelo exercício. A evolução foi superaguda e variou de poucos minutos a 59 minutos, exceto em um animal, que apresentou evolução maior que 7 horas. Clinicamente, os ovinos manifestaram taquipnéia, taquicardia, relutância à movimentação, eventualmente deitam em posição esterno-abdominal, tremores musculares generalizados, instabilidade, decúbito lateral, respiração ofegante e cada vez mais espaçada, movimentos de pedalagem intermitentes, opistótono e morte. À necropsia revelou edema pulmonar em 4/6 ovinos que receberam frações da dose letal repetida diariamente e em 4/5 animais que receberam doses letais adicionais. Esse achado não foi observado em nenhum dos seis que receberam doses únicas. Ao exame microscópico, foram verificadas alterações principalmente no fígado, rim e coração. No fígado e rim, as lesões eram de natureza regressiva e circulatória, e no miocárdio, de natureza regressiva, inflamatória e proliferativa. No rim dos seis ovinos que receberam doses únicas observaram-se tumefação das células epiteliais tubulares, na cortical e na junção córtico-medular (3/6 – 50%), degeneração hidrópico-vacuolar (DHV) das células epiteliais dos túbulos uriníferos contornados distais com picnose nuclear (2/6 – 33%), havia também lise de células epiteliais em alguns túbulos e aumento da filtração glomerular, caracterizada pela presença de substância amorfa eosinofílica nos espaços de Bowman e luz dos túbulos uriníferos (3/6 – 50%). Já no rim dos 11 ovinos que receberam doses repetidas ou uma dose adicional, observou-se tumefação de células epiteliais (9%), DHV das células epiteliais dos túbulos uriníferos contornados distais com picnose nuclear (36%) e aumento da filtração glomerular (18%). Adicionalmente, a tais lesões degenerativas e de aumento de permeabilidade, havia também lesões necróticas em cinco animais (5/11- 45%) (TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1986).

Algum tempo depois, foram realizados estudos experimentais com caprinos para estabelecer a dose letal e caracterizar o quadro clínico-patológico da intoxicação por *P. marcgravii* nesta espécie (TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1991). A administração, por via oral, de doses entre 0,6 g/kg e 1,0 g/kg de folhas frescas da planta foram capazes de provocar sinais clínicos e o óbito de mais de 2/3 dos animais. Verificou-se que o exercício precipita ou provoca os sinais clínicos de intoxicação e a morte, além de acentuar os sintomas uma vez



manifestados. A evolução variou de um minuto a dois dias. Os sinais clínicos observados incluíram relutância à movimentação, andar com membros rígidos, decúbito esterno-abdominal, tremores musculares, decúbito lateral, dispnéia acentuada e morte. A necropsia não revelou alterações significativas. Microscopicamente verificaram-se alterações, principalmente, de natureza regressiva no coração, fígado e rim. No miocárdio foram observados, em 50% dos casos, pequenos focos de necrose de coagulação de fibras cardíacas; no fígado havia, na maioria dos animais, vacuolização e necrose de hepatócitos; no rim, em apenas um caso, houve necrose de coagulação das células epiteliais dos túbulos uriníferos do córtex (TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1991).

Pacheco e Carneiro (1932a) demonstraram a toxidez de *P. marcgravii* para bovinos, através da administração 1,0 g/kg. Mais tarde, Döbereiner e Tokarnia (1959) investigaram a etiologia da mortandade de bovinos que ocorria anualmente, durante a época das chuvas, no Vale do Itapicuru, Maranhão. Naquela ocasião, foram realizados experimentos com cinco plantas apontadas como suspeitas de terem intoxicado os animais, o que possibilitou a comprovação do diagnóstico da intoxicação por *P. marcgravii*, em bovinos, pela primeira vez.

Anos depois, foram realizados estudos experimentais adicionais com a finalidade de complementar os conhecimentos acerca da toxicidade de *P. marcgravii* (TOKARNIA; DÖBEREINER, 1986). De início, foram feitos experimentos com doses únicas das folhas frescas em 30 bovinos e com folhas dessecadas em 11 animais. E posteriormente, administrações repetidas de doses subletais das folhas dessecadas a cinco bovinos, para verificar se a planta possuía efeito acumulativo. Verificou-se que a dose letal das folhas frescas é 0,6 g/kg. Foi demonstrado que a planta possui efeito acumulativo acentuado com doses de 1/5 da dose letal e, em menor escala, com doses de 1/10 da dose letal. As mesmas doses administradas semanalmente ou menores frações diárias da dose letal não causaram sinais clínicos. O quadro clínico-patológico apresentado foi de “morte súbita”, e os sintomas e a morte dos animais eram precipitados pelo exercício. Em geral, os sintomas observados foram semelhantes aos descritos anteriormente para os ovinos, exceto pelo marcado pulso venoso positivo comumente manifestado pelos bovinos. A necropsia não revelou alterações em quase metade dos bovinos (17/35) e, nos outros animais, os achados foram escassos e inconsistentes, caracterizados, principalmente, por hemorragias no epicárdio e congestão pulmonar. Ao exame microscópico, verificaram-se alterações no coração, rim e fígado. Contudo, a lesão que mais chamou a atenção foi observada no rim, sob a forma de degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos contornados distais, verificada em 17 dos 28 bovinos (60%) intoxicados com folhas frescas da planta (TOKARNIA; DÖBEREINER, 1986).

Em um estudo recente foi comparada a resistência de búfalos e bovinos à toxidez de *P. marcgravii* (BARBOSA et al., 2003). Verificou-se que em búfalos, doses de 0,5 g/kg, 1,0 g/kg e 2,0 g/kg não causaram sinais clínicos de intoxicação e que, foram necessárias doses entre 3,0 g/kg e 6,0 g/kg para causar a morte desses animais. Por outro lado, em bovinos, doses de 0,5 g/kg e 2,0 g/kg já foram suficientes para determinar a morte. Nos búfalos, os primeiros sintomas de intoxicação foram observados entre 8h e 28h17min após o começo da administração da planta e tiveram a duração dos sintomas graves de 10min a 1h28min. Já os bovinos manifestaram os primeiros sintomas 7h50min a 17h53min após o começo da administração da planta e a duração dos sintomas graves até a morte desses dois bovinos foi de 3 a 9 minutos. Verificou-se que tanto a influência do exercício sobre o aparecimento dos sinais clínicos, quanto os próprios sintomas, foram semelhantes nas duas espécies. Em ambas as espécies, a necropsia não revelou alterações significativas. Microscopicamente verificaram-se degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contornados distais, caracterizada por vacuolização citoplasmática e

picnose nuclear e, em alguns túbulos, havia lise de células epiteliais. Os autores concluíram que búfalos são aproximadamente seis vezes mais resistentes do que os bovinos à ação tóxica dessa planta.

Experimentos subsequentes foram desenvolvidos com o intuito de melhor caracterizar a intoxicação por *P. marcgravii* em equinos, através da administração de doses de 0,15 g/kg a 2,0 g/kg de folhas frescas recém-colhidas, por via oral, a oito animais. Doses de 0,15 g/kg e 0,3 g/kg não causaram sinais clínicos, exceto por um animal que recebeu 0,3 g/kg e manifestou sintomas leves. Foram necessárias doses entre 0,6 g/kg e 1,0 g/kg para causar a morte desses animais. Nos casos fatais, o início dos primeiros sintomas ocorreu entre 2 horas e 40 minutos a 6 horas e 25 minutos, após a administração da planta, e a evolução variou entre 10 e 43 horas. O quadro clínico manifestado pelos equinos foi bastante uniforme. Inicialmente os animais apresentaram intensa sudorese, seguida de inquietação, tremores musculares, movimentos abruptos de cabeça às vezes atingindo todo corpo (tiques), instabilidade, flacidez do lábio inferior, taquicardia, conjuntivas congestas, taquipnéia, respiração ofegante e exsiccose. Ao exame necroscópico não foram observadas lesões de relevância ou constantes. O exame histopatológico revelou, em todos os animais, necrose das células epiteliais dos túbulos uriníferos (picnose nuclear) e vacuolização citoplasmática com frequente evolução para lise; no fígado, foi observada leve a moderada degeneração turva, principalmente, nas zonas central e intermediária do lóbulo (TOKARNIA et al., 1993).

A toxidez de *P. marcgravii* foi estudada em coelhos, através de uma série de experimentos realizados pela administração de folhas dessecadas, por via intragástrica, a 200 coelhos e de folhas frescas, por via oral, a três outros (PEIXOTO et al., 1987). Doses menores que 0,125 g/kg não causaram a morte de nenhum animal e, foram necessárias doses de 2,0 g/kg para causar a morte de quase todos os coelhos, no entanto, a menor dose que causou a morte foi 0,125 g/kg. A planta dessecada pulverizada e guardada em vidros de tampa plástica, à temperatura ambiente conservou sua toxidez inalterada por 4-5 anos após sua coleta. Por outro lado, quando acondicionada em sacos de pano, pelo mesmo período de tempo, perdeu toda ou grande parte de sua toxidez. Nos experimentos realizados com folhas dessecadas, o tempo decorrido entre a administração da planta e o início dos sinais clínicos variou de 34 minutos a 13 horas e 1 minuto. Na maioria dos casos, a evolução foi superaguda e variou de 1 a 5 minutos. Os sinais clínicos caracterizavam-se pelo seu súbito aparecimento, tanto nos experimentos com folhas dessecadas quanto nos com as folhas frescas. Na maioria das vezes, os animais aparentemente sadios começavam a debater-se, geralmente de forma violenta, caíam em decúbito lateral, emitiam gritos, apresentavam movimentos de pedalagem, respiração fraca e espaçada e o óbito sobrevinha dentro de poucos minutos. Os achados de necropsia consistiram em alterações principalmente no fígado, sobretudo congestão e lobulação evidente, porém não muito típicas. O exame microscópico revelou alterações de natureza peculiar no fígado, rim e coração. No fígado observaram-se necrose, tumefação e vacuolização de hepatócitos, presença de microtrombos nos sinusóides e nas veias sublobulares e edema dos espaços de Disse; no coração, edema intracelular e afastamento entre as fibras, aumento da eosinofilia com perda de estriação das fibras e raros infiltrados inflamatórios linfocitários; no rim, tumefação e degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contorcidos distais (14/116 - 12%). Os autores concluíram que tais alterações hepáticas e cardíacas sugerem fortemente que o óbito dos animais esteja intimamente relacionado com falha cardíaca e que, a experimentação em coelhos pode ser utilizada como recurso auxiliar seguro no reconhecimento dessa planta, especialmente, para distingui-la de outras Rubiáceas, de aspecto semelhante, porém não tóxicas (PEIXOTO et al., 1987).

Os efeitos tóxicos de *P. marcgravii*, em diversas espécies de animais de laboratório foi reproduzido por diferentes vias de administração. A administração de extrato aquoso da planta, por via oral, no volume de 1,5 mL a camundongos, 6,0 mL a hamsters e ratos, e 12,0 mL a cobaios foi capaz de provocar episódios convulsivos seguidos de morte em todos os animais, exceto no camundongo. A manifestação dos primeiros sintomas variou de 1 a 8 horas após a administração da planta. Adicionalmente, verificou-se que ratos que receberam extratos de *P. marcgravii*, coletada no município de Vassouras, RJ, na diluição 1:6 manifestaram sinais clínicos com um menor período de latência (1 a 2 horas) do que os outros (3 a 4 horas) que foram intoxicados com extratos na diluição 1:10, da planta coletada no município de Rio Claro, RJ. Ratos intoxicados com o extrato da planta com doses entre 0,53 a 1,58 g/kg, por via endovenosa, apresentaram progressiva prostração no decorrer da infusão contínua e morte sem convulsões prévias, 16 a 92 minutos após início da infusão. Por outro lado, coelhos intoxicados com a mesma metodologia que receberam doses de 0,17 e 0,31 g/kg, manifestaram convulsões tônico-clônicas seguidas de morte, uma hora após o início da infusão do extrato. A infusão contínua de doses entre 0,82 e 2,23 g/kg, por via subcutânea, em ratos causou um quadro clínico semelhante ao observado na administração de extrato aquoso da planta, por via oral, porém o período de latência para o aparecimento dos primeiros sintomas após o começo da administração do extrato foi menor (83 a 117 minutos) nos animais intoxicados, por via subcutânea (GÓRNIAC, 1986).

Cobaios que ingeriram espontaneamente 10 g de folhas frescas apresentaram convulsões seguida de morte. Um cão experimentalmente intoxicado com extrato aquoso de 6,0 g de *P. marcgravii*, por via intraperitoneal, manifestou os primeiros sintomas de intoxicação 15 minutos após a administração do extrato. Clinicamente, o cão apresentou vômitos frequentes e, uma hora depois, acentuada sialorréia seguida por episódios convulsivos intermitentes, rigidez muscular, opistótono e morte. A evolução foi de duas horas (PACHECO; CARNEIRO 1932a).

#### **2.4.2 *Arrabidaea bilabiata***

*Arrabidaea bilabiata* (Sprague) Sandw., conhecida pelos nomes populares de “gibata” ou “chibata” é a bignoniaceae mais importantes das regiões de várzea da Bacia Amazônica e a segunda em importância, quando considerada toda a Região Amazônica, por ser a planta tóxica responsável pela grande maioria das numerosas mortes de bovinos que ocorrem nessas áreas. É um cipó ou arbusto escandente abundante em muitas áreas da Bacia Amazônica, mas é encontrada apenas nas partes baixas (várzeas, restingas e abas-de-teso) que se inundam durante o período de “cheia” isto é, nas margens do Rio Amazonas, de seus paranás, lagos e afluentes (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000). Sob condições naturais, a intoxicação por *A. bilabiata* é observada em bovinos e búfalos (TOKARNIA et al., 2007). Estudos experimentais têm sido realizados em bovinos (DÖBEREINER; TOKARNIA; SILVA, 1983), búfalos (TOKARNIA et al., 2004) e coelhos (DÖBEREINER; PEIXOTO; TOKARNIA, 1984; JABOUR et al., 2006).

Na Venezuela, onde a toxidez de *A. bilabiata* foi primeiramente descrita, tem-se sugerido que a estação do ano influencia a toxicidade da planta; quanto maior a precipitação pluviométrica, menor seria a toxidez (CORTEZ, 1969/71).

Em estudos realizados nos Estados do Amazonas, Pará e Acre com a finalidade de investigar a causa das numerosas mortandades de bovinos que ocorriam nas partes baixas da região Amazônica, foram feitos uma série de experimentos em bovinos através da administração da brotação e de folhas maduras da planta fresca, por via oral, colhidas em diversas épocas do ano e em diversos municípios da Amazônia (DÖBEREINER; TOKARNIA; SILVA, 1983).

Nesses experimentos, verificou-se uma grande variação na toxidez da planta, uma vez que, a administração da planta a 23 bovinos, causou o óbito de nove, em doses que variaram de 2,5 g/kg a 15 g/kg. Entretanto, em outros experimentos com as folhas frescas, colhidas em um só município (Itacoatiara, AM) e na mesma época, 1,25 g/kg das folhas causaram graves sintomas de intoxicação e 2,5 g/kg provocaram a morte. Em outros estudos experimentais, também na Amazônia, mas em locais e épocas diferentes, a maior dose que não causou sintomas de intoxicação foi de 10 g/kg. Contudo, não se conseguiu estabelecer os fatores responsáveis pela grande variação da toxidez da planta. Os primeiros sintomas de intoxicação foram observados entre 3 horas e 25 minutos a 23 horas e 45 minutos após o início da administração da planta. A evolução variou entre 5 minutos e 4 horas e 4 minutos. O quadro clínico-patológico apresentado foi de “morte súbita”, e o exercício teve pequena influência sobre o aparecimento dos sintomas. Os achados de necropsia foram praticamente negativos. A histopatologia revelou no rim, de três dos nove bovinos, degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos uriníferos contornados distais (DÖBEREINER; TOKARNIA; SILVA, 1983).

Recentemente, foram realizados estudos adicionais com o intuito de verificar a sensibilidade de búfalos à *A. bilabiata*, compará-la à dos bovinos, além de investigar a eventual diferença de toxidez entre as folhas novas e maduras da planta, bem como entre diferentes épocas do ano (TOKARNIA et al., 2004). Verificou-se que as folhas novas da planta são duas vezes (em outubro, fim da época da seca) ou uma vez e meio (em maio, fim da época de chuva) mais tóxica do que as folhas maduras, e que a planta é mais tóxica em outubro. Nos experimentos realizados em búfalos, com a planta coletada em outubro de 2002, a menor dose das folhas novas que levou os animais à morte foi 3,0 g/kg e com as folhas maduras 6,0 g/kg. Dois búfalos que receberam a planta mostraram sintomas leves entre 3h15min e 5h50min após a administração da planta e, sintomas graves, após 4h49min a 6 h45min do início do experimento, sem terem sido exercitados. Já outro búfalo só manifestou sinais clínicos graves após movimentação. A evolução desde o início da manifestação dos sintomas graves até a morte variou de seis a 40 minutos. O quadro clínico caracterizou-se por andar lento e desequilibrado, tremores musculares, queda e imediato decúbito lateral, movimentos de pedalagem intermitentes, tremores musculares ocasionais, respiração ofegante, às vezes com a boca aberta e a língua protrusa, e adicionalmente estrabismo e nistagmo. O exame necroscópico revelou edema pulmonar caracterizado por espuma na traquéia e nos brônquios, além de aspecto úmido na superfície de corte do parênquima pulmonar e discreto a acentuado, enfisema pulmonar. Os exames histopatológicos revelaram no pulmão áreas de enfisema alveolar, congestão e, em alguns alvéolos, edema. No rim havia necrose incipiente das células epiteliais (núcleos com cromatina condensada e citoplasma mais eosinófilico) de alguns túbulos uriníferos do córtex e ausência de lesões renais em um animal (TOKARNIA et al., 2004).

Nos experimentos realizados em búfalos, com a planta coletada em maio de 2003, a dose letal mínima das folhas novas foi 6,0 g/kg e das folhas maduras 9,0 g/kg. O início da manifestação dos sinais clínicos ocorreu entre 5 horas e 40 minutos, e 9 horas e 10 minutos após o começo da administração da planta. A evolução não foi observada em um búfalo e, no outro, a fase final foi de 6 minutos. Clinicamente, o animal apresentou decúbito; quando estimulado a se levantar, dava alguns passos e se deitava logo; às vezes rangia os dentes levemente. Quando exercitado, mostrou dificuldade para se locomover; apresentava a jugular ingurgitada, tremores musculares na região do peito e da escápula e respiração com a boca aberta e morte. À necropsia, os pulmões estavam mais pesados e avermelhados (congestão e edema) em um dos dois animais. Os exames histopatológicos revelaram no pulmão moderada a acentuada congestão difusa e leve edema interlobular e, no fígado e baço, moderada congestão (TOKARNIA et al., 2004).

Em relação aos bovinos experimentalmente intoxicados com a planta coletada em maio de 2003, a menor dose das folhas novas que causou a morte foi 2,0 g/kg e das folhas maduras 3,0 g/kg. Entretanto, a dose de 1,0 g/kg causou um quadro patológico muito grave. Desta forma, esses autores concluíram que o búfalo é pelo menos duas vezes mais resistentes que o bovino à ação tóxica de *A. bilabiata*. Um bovino apresentou sintomas leves a partir de 10 horas e 27 minutos após o começo da administração da planta. Dos cinco bovinos que morreram, três manifestaram sintomas leves quando exercitados entre três horas e nove minutos e 12 horas e 56 minutos após o início da administração da planta. Estes animais, mais tarde, independente de exercício, subitamente mostraram sintomas graves e morreram entre dois e 11 minutos. No dia seguinte da administração, outro bovino subitamente manifestou sintomas graves antes do segundo exercício e morreu. Os sintomas consistiram de relutância a movimentação, jugular saliente, ingurgitada e pulsando, súbita perda de equilíbrio, queda ao solo, decúbito lateral, respiração ofegante, mugidos, movimentos de pedalagem e morte. À necropsia verificou-se congestão pulmonar em um bovino. Os exames histopatológicos revelaram no pulmão, áreas com edema alveolar; no rim, acentuada degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos uriníferos contorcidos distais; no baço, moderada congestão e, no fígado, moderada vacuolização dos hepatócitos na zona intermediária, moderada congestão e ausência de alterações em dois bovinos (TOKARNIA et al., 2004).

Com a finalidade de verificar se o coelho pode ser usado como animal experimental no estudo sobre a ação tóxica de *A. bilabiata* e avaliar o seu emprego como recurso auxiliar, no diagnóstico dessa intoxicação em bovinos, Döbereiner, Peixoto e Tokarnia (1984) administraram a 57 coelhos folhas dessecadas e pulverizadas da planta, em doses únicas, por sonda gástrica, em quantidades que variaram de 0,5 g/kg a 6,0 g/kg. Neste estudo, verificaram-se grande variação nas doses capazes de causar sinais clínicos e o óbito dos animais. A menor e a maior dose capazes de induzir a morte foram, respectivamente, 1,0 g/kg e 6,0 g/kg. Entretanto, alguns coelhos que receberam 1,0 g/kg; 2,0 g/kg; 4,0 g/kg e 6,0 g/kg não morreram. O início dos sintomas variou entre 2 horas e 22 minutos a 12 horas e 07 minutos após a administração da planta. A evolução variou de 30 segundos e 17 minutos. Os principais sintomas observados foram movimentos desordenados e violentos que se iniciaram subitamente. Os coelhos debatiam-se ou pulavam; outras vezes só faziam movimentos desordenados lentos e em seguida caíam, em geral, em decúbito lateral. Dispneia e diminuição da frequência respiratória, em geral, antecediam o óbito. A maioria dos animais emitia gritos, com maior ou menor frequência, desde o início do aparecimento dos sintomas até a morte. A necropsia, da maioria dos animais, não revelou alterações significativas (15/26), nos demais coelhos, verificaram-se congestão hepática. Ao exame histológico verificaram-se, no fígado, necrose com figuras de cariopícnose e cariorrexia, preferencialmente, nas zonas intermediárias, atingindo às vezes partes das zonas centrais dos lóbulos hepáticos. Em alguns casos havia vacuolização do citoplasma dos hepatócitos (Sudam III negativo). Os hepatócitos se mostravam tumefeitos e, às vezes com degeneração albuminosa granular (Sudam III negativo). Havia congestão e dissociação dos cordões hepáticos em praticamente metade dos casos. No rim, a lesão mais importante foi uma degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contorcidos distais, caracterizada pela presença de vacúolos grandes (Sudam III negativo) associados a núcleos picnóticos (9 casos - 37,5%). No coração, houve afastamento das fibras cardíacas em alguns casos, e infiltrado eosinofílico das fibras cardíacas, que se tornaram homogêneas com perda de estriação, além de edema intracelular das fibras cardíacas (DÖBEREINER; PEIXOTO; TOKARNIA, 1984).

Recentemente, foi realizado um estudo em coelhos com objetivo de complementar os estudos sobre a toxidez de *A. bilabiata*, realizando-se experimentos com folhas maduras e

brotação dessecadas, coletadas no mesmo local e nas mesmas épocas do ano, que os experimentos previamente realizados por Tokarnia et al. (2004) em búfalos. Quinze coelhos adultos receberam a brotação e as folhas maduras de *A. bilabiata* em suspensão aquosa, por via intragástrica, nas doses entre 0,25 g/kg e 6,0 g/kg. Nos experimentos realizados com a brotação coletada em outubro (fim da época de seca), a menor dose letal foi 0,5 g/kg e, em maio (fim da época de cheia), 1,0g/kg. Nas administrações de folhas maduras coletadas em outubro, a menor dose capaz de causar a morte dos coelhos foi de 4,0 g/kg, e, em maio, 6,0g/kg. A evolução foi superaguda em todos os casos letais. Clinicamente, os coelhos de súbito debatiam-se com vigor, caíam em decúbito lateral ou esternal, apresentavam movimentos de pedalagem, acentuada dispnéia e morriam. Macroscopicamente não foram observadas alterações significativas. Ao exame histopatológico as lesões mais importantes caracterizaram-se, nos rins, por degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contorcidos distais (em 50% dos casos); no fígado por vacuolização difusa do citoplasma e necrose de hepatócitos, predominantemente centrolobular e paracentral e presença de esférulas eosinofílicas nos sinusóides hepáticos; no coração, por grupos de fibras cardíacas com eosinofilia aumentada. Este estudo evidenciou que a toxidez de *A. bilabiata* varia de acordo com a época do ano, e com o seu estado de maturação, uma vez que a planta foi mais tóxica em outubro e quando em brotação (JABOUR et al., 2006).

### 2.4.3 *Mascagnia rigida*

*Mascagnia rigida* (Juss.) Griseb., cipó ou arbusto escandente da família Malpighiaceae, é a planta tóxica mais conhecida, difundida e importante da Região Nordeste e de parte da Região Sudeste do Brasil. Os principais nomes populares da planta são “tingui” e “timbó”. Na Bahia é conhecida ainda como “quebra-bucho” e “pela-bucho”; nos vales dos rios do Jequitinhonha e Mucuri (Minas Gerais), é conhecida pelos termos “salsa-roxa” e “rama-amarela”, e no vale do rio Doce (Minas Gerais e Espírito Santo), pelos nomes “suma-branca” e “suma-roxa” (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000).

Sob condições naturais, a intoxicação por *M. rigida* ocorre, principalmente, em bovinos (TOKARNIA; CANELLA; DÖBEREINER, 1961; MEDEIROS et al., 2002), mas são descritos surtos de intoxicação pela planta também em ovinos (VASCONCELOS et al., 2008) e caprinos (OLIVEIRA et al., 1978). Experimentalmente têm sido intoxicados, além dos bovinos (TOKARNIA et al., 1961, 1994, SANTOS, 1975), também ovinos (VASCONCELOS et al., 2008), caprinos (PARAGUASSU, 1983; VASCONCELOS et al., 2008) e coelhos (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 1987; MEDEIROS et al., 2002).

Recentemente, foram descritos três surtos de intoxicação natural por *M. rigida* em ovinos no semi-árido paraibano. Dois surtos ocorreram no município de São José do Bonfim e o outro no município de Cacimbas, Paraíba. No primeiro surto, o rebanho acometido era composto por 30 animais, dos quais seis manifestaram sinais clínicos de intoxicação e quatro morreram; no segundo surto, dos 12 ovinos existentes na propriedade, nove apresentaram sintomas e dois morreram; já no último surto, dois dos 40 ovinos do rebanho, mostraram sinais clínicos e morreram (VASCONCELOS et al., 2008). Adicionalmente, foi realizada a reprodução experimental da intoxicação por *M. rigida* em três ovinos e em três caprinos, através da administração, por via oral, de folhas frescas nas doses de 5,0 g/kg, 10 g/kg e 20 g/kg. A dose de 5,0 g/kg causou apenas leve taquicardia, tanto no ovino, quanto no caprino, que se recuperaram totalmente após 14h e 16h40min, respectivamente. Doses de 10 e 20 g/kg causaram a morte de todos os ovinos e caprinos. O ovino que recebeu a dose de 10 g/kg apresentou os primeiros sintomas de intoxicação 2h25min após a administração da planta e, evolução de 1h54min. Já o

outro ovino intoxicado com 20 g/kg, manifestou sinais clínicos 3h05min após a administração da planta e morreu 21h35min após o início dos sintomas. Nos experimentos realizados com caprinos, doses de 10 g/kg e 20 g/kg causaram os primeiros sintomas de intoxicação 5h e 1h após a administração da planta, respectivamente. Nesses casos, a evolução foi de 1h e 54min, no animal que recebeu a dose de 20 g/kg e de 17h para o caprino que ingeriu a dose de 10 g/kg (VASCONCELOS et al., 2008). Por outro lado, em estudos experimentais realizados por outros autores com *M. rigida* em caprinos no Nordeste, verificou-se que a menor dose capaz de causar a morte foi 20 g/kg, enquanto outro caprino que recebeu a dose de 41,5 g/kg nem sequer manifestou sintomas (PARAGUASSU, 1983).

O quadro clínico observado em ovinos e caprinos caracterizou-se por relutância a mover-se, ingurgitamento das veias jugulares, tremores musculares, taquicardia, instabilidade, queda, respiração ofegante e morte. Ao exame macroscópico verificaram-se discreta evidência do padrão lobular do fígado (ovinos e caprinos), hidropericárdio, petéquias nas superfícies pleural, subepicárdica (ovinos) e edema pulmonar (ovinos e caprinos). A histopatologia revelou discreta (ovinos) a acentuada (caprinos) degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contornados distais, principalmente na região córtico-medular. Os autores sugerem, com base nos resultados experimentais obtidos, que ovinos e caprinos não apresentam diferenças de susceptibilidade à toxidez de *M. rigida*, quando esta possui a mesma procedência (VASCONCELOS et al., 2008).

Tokarnia, Canella e Döbereiner (1961) acompanharam casos naturais de intoxicação e morte de bovinos, atribuídos por vaqueiros à ingestão de “tingui” no município de Messejana, Ceará e, posteriormente, realizaram uma série de experimentos. Nas observações dos casos naturais, acompanharam a remoção de 50 vacas mantidas em um pasto infestado por *M. rigida*, no município vizinho de Pacatuba, onde foram mantidas por um mês. A marcha, de poucos quilômetros, desse pasto até a outra propriedade, se iniciou às 6 horas da manhã, e teve três horas de duração, uma vez que, já era de conhecimento popular que o gado que ingeriu a planta deve ser movimentado com cuidado e calma, para evitar casos de “morte súbita”. Aproximadamente às 7 horas e 45 minutos, uma vaca avançou de repente para o lado da estrada, subitamente caiu em decúbito lateral, apresentou movimentos de pedalagem e, foi eutanasiada, poucos instantes após o início do estado agônico. Uma hora depois, outra vaca repentinamente caiu ao solo e morreu com o mesmo quadro clínico manifestado pelo outro animal. A necropsia, dos dois bovinos, não revelou alterações significativas.

Mais tarde, foram realizados 13 experimentos pela administração da planta, por via oral, em quantidades e períodos variáveis a 11 bovinos (TOKARNIA; CANELLA; DÖBEREINER, 1961). Nesses experimentos, oito bovinos morreram, todos apresentaram a chamada síndrome da “morte súbita”, sem manifestação de sintomas prévios evidentes de intoxicação. A menor dose única capaz de causar a morte foi de 50 g/kg, no entanto, outro animal sobreviveu, sem manifestar sinais clínicos, após receber dose única de 94 g/kg. A administração diária de 5,0 g/kg, por três dias, foi capaz de causar a morte de um bovino, enquanto outro que recebeu a mesma dose repetida diariamente por 30 dias, não apresentou sintomas. Não foi possível determinar a dose letal para bovinos, devido à grande variabilidade nas doses que foram capazes de provocar a morte, nem demonstrar a influência do exercício na precipitação dos sintomas, uma vez que, não houve “morte súbita” de bovinos enquanto tocados. Em geral, os achados de necropsia foram negativos. A histopatologia revelou importantes lesões cardíacas, porém essas eram menos acentuadas do que nos casos naturais (TOKARNIA; CANELLA; DÖBEREINER, 1961).

Anos depois, foram realizados experimentos com bovinos, nos quais e também se não conseguiu estabelecer a dose letal da planta, mas ficou demonstrado, em parte, que o exercício é

capaz de provocar ou precipitar os sintomas. Adicionalmente, também não foi possível correlacionar a variação de toxidez da planta com a procedência ou com o estado de amadurecimento das folhas (SANTOS, 1975; TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 1994). Entretanto, ao contrário do que foi demonstrado anteriormente em bovinos, a movimentação dos caprinos, experimentalmente intoxicados por *M. rigida* foi um fator decisivo no aparecimento dos sintomas (PARAGUASSU, 1983).

Tokarnia, Döbereiner e Canella (1987), dando continuidade aos estudos sobre a toxidez de *M. rigida* administraram experimentalmente, por via oral, doses únicas das folhas (2,0 e 4,0 g/kg) e dos frutos (0,06125 a 2,0 g/kg) da planta dessecadas a coelhos, com o intuito de verificar se essa espécie animal é sensível à intoxicação por *M. rigida* e avaliar o seu emprego como animal experimental de pequeno porte na continuação das pesquisas sobre a ação tóxica da planta, bem como no isolamento e identificação de seus princípios tóxicos. Neste estudo, verificou-se que, em sete coelhos, doses de 2,0 g/kg das folhas não causaram sintomas e foram necessárias doses de 4,0 g/kg para causar a morte de outros sete animais. Em relação aos frutos, doses de 0,5 g/kg ou maiores causaram a morte de todos os três coelhos; 0,25 g/kg de três dos quatro animais e 0,125 g/kg de um dos dois coelhos que receberam essas doses. Contudo, foi demonstrado que os frutos são aproximadamente 20 vezes mais tóxicos que as folhas. Nos experimentos realizados com as folhas, os coelhos mostraram os primeiros sintomas de intoxicação entre 5h47min e 11h35min, já no caso dos frutos, entre 1h15min e 28h13min, após a sua administração. A evolução da intoxicação foi de um a quatro minutos. O quadro clínico apresentado pelos coelhos foi de “morte súbita”, ou seja, repentinamente faziam movimentos desordenados, caíam em decúbito lateral, emitiam gritos, apresentavam respiração espaçada e dispnéica, seguida pela morte. Os principais achados de necropsia foram congestão e evidenciação do padrão lobular do fígado e congestão pulmonar. O exame microscópico revelou no fígado, rim e coração alterações de naturezas degenerativas e vasculares. No rim, havia degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais em cinco coelhos.

Recentemente, Medeiros et al. (2002) realizaram experimentos em coelhos, como método auxiliar no diagnóstico de um surto de intoxicação por *M. rigida* em bovinos no Agreste da Paraíba. As folhas dessecadas da planta, coletada na área onde o surto ocorreu, foram administradas, por via oral, a três grupos de coelhos, cada grupo com dois animais, nas doses de 1,25 g/kg, 2,5 g/kg e 5,0 g/kg. Doses de 1,25 g/kg não causaram sintomas. Todos os coelhos que receberam doses de 2,5 e 5,0 g/kg manifestaram os primeiros sintomas de intoxicação 3h e 24min a 15h e 50min após a administração da planta. O quadro clínico apresentado pelos animais foi de “morte súbita” e a evolução da intoxicação foi de um a três minutos. Adicionalmente, foram realizados experimentos com a mesma metodologia, porém com a planta coletada na região do Sertão, onde a doença não ocorre e, com doses de 5,0 g/kg, 10 g/kg e 20 g/kg. A única dose que causou sintomas de intoxicação e a morte de um coelho foi 20 g/kg. Os primeiros sintomas ocorreram 3h e 27min após a administração da planta e, a evolução foi de 2 min. Desta maneira, foi demonstrado que a planta apresenta uma grande variação de toxidez de acordo com a região, uma vez que, a planta coletada na área onde o surto ocorreu foi, aproximadamente, oito vezes mais tóxica do que a coletada onde a doença não ocorre.



## MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1. Animais

Foram utilizados sete ovinos clinicamente saudáveis, sem raça definida, machos e fêmeas, com idades entre 6 meses e 3 anos e pesos entre 19 e 53 Kg. Esses ovinos faziam parte de um lote de animais, que havia sido destinado a descarte, mas foram doados pelo proprietário à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

### 3.2. Monofluoroacetato de Sódio

Todo o experimento foi conduzido utilizando-se o MF (Sigma-Aldrich Co<sup>†</sup>), com grau de pureza  $\geq 95\%$ , pertencente ao lote 23207046 (Figura 7). As doses administradas aos ovinos foram estabelecidas com base naquelas descritas por Humphreys (1998), previamente pesadas em balança eletrônica de precisão e diluídas, no momento de sua administração, em 10 mL de água destilada.



**Figura 7.** Monofluoroacetato de sódio utilizado nos experimentos.

### 3.3. Local

Os experimentos e as necropsias foram realizados entre abril e maio de 2008 no Setor de Anatomia Patológica do Projeto Sanidade Animal, convênio Embrapa/UFRRJ, Km 47, município de Seropédica, Rio de Janeiro. Os ovinos foram mantidos em baias individuais de alvenaria com área de 4,0 m<sup>2</sup> e piso de cimento. O processamento do material coletado durante as necropsias,

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

assim como a confecção de lâminas para o exame histológico, foram realizados no Laboratório de Histopatologia do Setor acima descrito.

### **3.4. Delineamento Experimental**

Os ovinos foram previamente submetidos a um exame clínico minucioso (Anexo A), vermifugados com ivermectina e adaptados ao local por pelo menos uma semana. A dieta era constituída de capim picado (*Panicum maximum*) e água à vontade. Os animais foram pesados por ocasião do início do experimento.

O experimento piloto, denominado de auto-direcional, foi realizado em dois animais, com o objetivo de utilizar o menor número possível destes, por se tratar de um estudo descritivo. Os experimentos subsequentes foram executados de forma sucessiva, de dois em dois animais, na dependência dos primeiros resultados obtidos. Dos sete ovinos utilizados nos experimentos, seis receberam o MF por via oral. Um animal, mantido nas mesmas condições que os demais, não recebeu o MF e serviu como controle; para esse animal administrou-se 10 mL de água destilada por via oral.

O MF foi administrado nas doses únicas de 0,5 e 1,0 mg/kg, cada dose para dois animais, e em doses subletais repetidas diariamente de 0,1 e 0,2 mg/kg/dia, cada dose para um animal, conforme descrito na Tabela 8.

Os animais foram observados continuamente e examinados clinicamente, no mínimo, a cada duas horas, desde o momento da administração do MF até a morte, exceto os dois animais que receberam doses subletais repetidas diariamente, os quais foram inicialmente observados, pelo menos, oito vezes ao dia e examinados clinicamente quatro vezes por dia, até que o somatório das subdoses administradas atingisse a dose letal descrita na literatura. A partir desse momento, esses animais, também foram observados continuamente e submetidos ao exame clínico com a mesma metodologia inicialmente descrita. Durante o exame clínico era realizada a avaliação dos seguintes parâmetros clínicos: frequências cardíaca e respiratória, temperatura retal, frequência e intensidade dos movimentos ruminais, presença ou não de pulso venoso, a postura e o comportamento dos animais. Foram observados ainda, a ingestão de água e capim, bem como a frequência da micção e defecação.

A cada ovino foi atribuído um número de registro para sua identificação e os dados obtidos nos exames clínicos realizados antes e durante os experimentos foram anotados em fichas clínicas individuais (Anexo A).

### **3.5 Exames Complementares**

Foram feitas coletas de sangue de todos os ovinos, e urina de três destes. As amostras de sangue destinadas à bioquímica sérica (uréia e creatinina) foram obtidas da veia jugular e acondicionadas em tubos secos, a fim de permitir a formação e retração do coágulo. Foram coletadas amostras no tempo zero (imediatamente antes da administração do MF) de quatro animais, porém após a administração do MF o intervalo de tempo entre as coletas variou de acordo com a dose de MF administrada, conforme descrito nas Tabelas 9 e 10. As amostras de urina foram coletadas por micção espontânea durante o exame clínico e/ou por punção vesical, durante a necropsia, quando esta estava repleta e acondicionadas em frascos coletores estéreis. Imediatamente após esse procedimento, as amostras foram refrigeradas e encaminhadas para o

Laboratório de Patologia Clínica (Lacani) no Rio de Janeiro, onde foram processadas, em média, até 6 horas após a sua obtenção.

O ovino 5766, que recebeu doses subletais 0,2 mg/kg repetidas diariamente de foi submetido a exames ecocardiográficos no terceiro e no quarto dia (87h40min e 119h25min, respectivamente) após a administração da primeira subdose, com o intuito de se observar os efeitos do MF sobre o funcionamento do coração.

### 3.5.1 Bioquímica Sérica

As dosagens de uréia e creatinina foram realizadas através de kits comerciais (Bioclin<sup>®</sup>) e as leituras foram feitas no espectrofotômetro (Bioplus<sup>®</sup>, modelo Bio 2000).

### 3.5.2 Urinálise

Para a realização deste exame foi utilizada a metodologia descrita por Garcia-Navarro (1996).

### 3.5.3 Exames Ecocardiográficos

Utilizou-se o aparelho da marca Sonosite, modelo 180 Plus com transdutor microconvexo C11 (frequência 4 a 7 MHz) (Figura 8).



**Figura 8.** Intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Exame ecocardiográfico (Ovino 5766).

### **3.6 Necropsia**

Todos os ovinos foram necropsiados imediatamente após a morte, exceto o ovino 5764 que encontrado morto e necropsiado dentro de poucos minutos. Foram coletados encéfalo, medula e hipófise íntegros e fragmentos de coração, fígado, vesícula biliar, rins, baço, pulmões, trato gastrointestinal, bexiga, testículo ou ovário, pâncreas, adrenal, tireóide, linfonodos e grupos musculares isolados (intercostal, diafragma e longíssimo dorsal). Esse material foi fixado imediatamente em formalina a 10% tamponada com carbonato de cálcio; os fragmentos de músculos só foram fixados duas horas após a coleta. A formalina foi trocada oito horas após a primeira fixação.

### **3.7 Histopatologia**

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 5 $\mu$ . Os cortes foram corados pela hematoxilina-eosina (HE) e as lâminas examinadas em microscópio óptico.

## 4 RESULTADOS

Os principais dados sobre o delineamento experimental e o desfecho encontram-se na Tabela 8. Dos seis ovinos utilizados em nosso estudo que receberam o MF, cinco morreram. O ovino utilizado como controle não apresentou qualquer alteração clínica.

### 4.1 Dose Administrada e Evolução Clínica

A evolução da intoxicação variou de 3min a 33h e 5min. Nos experimentos com **doses únicas**, os ovinos 5762 e 5765 que receberam doses de 1,0 mg/kg apresentaram evolução clínica superaguda (10 e 3min respectivamente); para o ovino que recebeu a dose de 0,5 mg/kg a evolução foi de 7h e 55min (5761); o segundo animal (5763) que recebeu essa mesma dose não manifestou sinais clínicos. Nos experimentos com **subdoses repetidas diariamente**, o ovino 5766 que recebeu 0,2 mg/kg/dia por 4 dias apresentou evolução de 33h e 5min e o ovino 5764, que recebeu 0,1 mg/kg/dia por 6 dias, foi encontrado morto 86h e 18min após o início da administração do MF. Convém ressaltar que esse animal ainda mantinha a temperatura corporal (38,1°C), não apresentava *rigor mortis*, exibia mucosas ainda úmidas e sangue não-coagulado.

A dose de 0,2 mg/kg/dia foi a que ocasionou a evolução mais longa (33horas e 5min).

### 4.2 Aspectos Clínicos

#### 4.2.1 Início dos sinais clínicos

Observaram-se sinais clínicos em quatro dos seis animais experimentais. O ovino 5763 não manifestou sinais clínicos e o ovino 5764, que recebeu 0,1 mg/kg/dia durante 4 dias, foi encontrado morto no dia 21 de abril de 2008 às 8 horas da manhã, sem que tivesse sido observado qualquer sinal clínico.

O tempo decorrido entre a administração do MF e a manifestação dos primeiros sinais clínicos variou de 9h e 44min a 88h e 31min. Com **doses únicas** de 1,0 mg/kg, os sinais clínicos se iniciaram 9h e 44min (5765) e 13h e 20min (5762) após a administração do MF; já o ovino 5761, que recebeu 0,5 mg/kg e morreu, os sinais clínicos tiveram início 14h e 6min após a administração do MF. Com **subdoses repetidas diariamente** de 0,2 mg/kg/dia, os sinais clínicos se iniciaram 88h e 31min (5766) após a primeira administração.

#### 4.2.2 Quadro clínico geral

Os principais achados clínico-patológicos encontram-se nas Tabelas 12 e 13. Detalhes sobre os sinais clínicos encontram-se em protocolos experimentais no Anexo A.

Nos quatro animais em que foram observados sinais clínicos, verificaram-se taquicardia, taquipnéia, arritmia, respiração abdominal, ligeira perda de equilíbrio, por vezes cambaleavam, apoiavam a cabeça no flanco (postura de auto-auscultação), levantavam e deitavam em decúbito externo-abdominal repetidamente (Figura 10). Três ovinos (5761, 5762 e 5766) manifestaram tremores musculares e apatia (Figura 9). Dois animais apresentaram jugulares ingurgitadas (5765 e 5766) (Figura 9), poliúria (5761 e 5766), nistagmo (5762 e 5765), prostração (5761 e 5766) (Figura 11), estertores pulmonares (5761 e 5762), subitamente começaram a correr (5762 e 5765) e um colidiu contra a parede (5762). Um ovino exibiu pulso venoso positivo (5766), relutância em mover-se (5766), dispnéia (5761), distendia o pescoço e apoiava a cabeça no solo (5766) e

presença de líquido espumoso saindo pelas narinas e boca (5761) (Figura 12). Na fase final, em geral, os animais caíam em decúbito lateral, esticavam os membros (Figura 13), faziam movimentos de pedalagem (Figura 14), apresentavam opistótono, respiração ofegante e morriam em poucos minutos.

**Tabela 8.** Principais dados sobre o delineamento experimental e desfecho da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos

Identificação do ovino (Reg. SAP)	Sexo	Idade	Peso (kg)	Dose do MF	Nº de administrações	Dose total (mg)	Data e hora da administração	Início dos sinais clínicos após o começo da administração do MF	Evolução da intoxicação	Desfecho
5761 (31260)	Fêmea	3 anos	31	0,5 mg/kg	1	15,5	04/04/2008 21:16	14h e 6min	7h e 55min	Morreu
5763	Fêmea	2 anos	37	0,5 mg/kg	1	18,5	17/04/2008 17:37	----	----	Sem sintomas
5762 (31261)	Fêmea	6 meses	19	1,0 mg/kg	1	19,0	05/04/2008 03:15	13h e 20min	10min	Morreu
5765 (31265)	Macho	3 anos	53	1,0 mg/kg	1	53,0	22/04/2008 17:08	9h e 44min	3min	Morreu
5764 (31263)	Fêmea	2 anos	36	0,1 mg/kg/dia	4	14,4 (3,6 mg/dia)	17/04/2008 17:42*	----	----	Encontrado morto**
5766 (31266)	Macho	3 anos	44	0,2 mg/kg/dia	6	52,8 (8,8 mg/dia)	19/04/2008 17:00*	88h e 31min	33h e 5min	Morreu
Controle	Macho	3 anos	43	----	----	10 ml de água destilada	04/04/2008 21:20	----	----	----

\* Data e hora da 1ª administração.

\*\* Encontrado morto 86h e 18min após a 1ª administração.



**Figura 9.** Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Ovino 5766 (doses repetidas de 0,2 mg/kg/6dias) apático e com jugular ingurgitada (seta).



**Figura 10.** Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Ovino 5761 (dose única de 0,5 mg/kg) em decúbito esternal e postura de auto-auscultação.





**Figura 11.** Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Ovino 5766 (doses repetidas de 0,2 mg/kg/6dias) prostrado, com pescoço distendido e cabeça apoiada no chão.



**Figura 12.** Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Ovino 5761 (dose única de 0,5 mg/kg) eliminando líquido espumoso pelas narinas e boca, o que caracteriza acentuado edema pulmonar.



**Figura 13.** Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Ovino 5765 (dose única de 1,0 mg/kg) com rigidez dos membros na “fase dramática”.



**Figura 14.** Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Ovino 5762 (dose única de 1,0 mg/kg) em movimentos de pedalagem na “fase dramática”.

## **4.3 Exames Complementares**

### **4.3.1 Bioquímica sérica**

Todos os ovinos apresentaram alteração em pelo menos um dos parâmetros bioquímicos avaliados, conforme apresentado de forma detalhada na Tabelas 9 e 10. Verificou-se moderado a acentuado aumento nos níveis de uréia em todos os animais. Os níveis de creatinina nos animais 5761, 5763 e 5764 revelaram-se discretamente aumentados, porém nos demais ovinos (5762, 5765 e 5766) apresentaram-se normais. No entanto, no animal 5766, observou-se, através de análises seriadas, um aumento gradual dos níveis de creatinina até atingir o valor de referência máximo (1,9 mg/dL) no momento da última coleta de sangue realizada (122 horas após a administração da primeira subdose de 0,2 mg/kg),

### **4.3.2 Urinálise**

Não foram observadas alterações à análise das amostras de urina coletadas durante o experimento.

### **4.3.3 Exames ecocardiográficos**

Os principais achados ecocardiográficos encontram-se na Tabela 11. Verificaram-se, aos exames realizados no ovino 5766, marcada redução da fração de encurtamento sistólico do ventrículo esquerdo (30% e 21%), leve aumento de tamanho do átrio esquerdo e direito, bem como das dimensões do ventrículo direito.

**Tabela 9.** Análises bioquímicas dos ovinos intoxicados experimentalmente com doses únicas de monofluoroacetato de sódio

Identificação do ovino e dose administrada	Bioquímica sérica	Horas após a administração		Valores de referência
		0h	17h	
<b>Ovino 5761 (0,5 mg/kg)</b>	Uréia (mg/dL)	---	<b>17,7</b>	8 – 10
	Creatinina (mg/dL)	---	1,98	1,2 – 1,9
<b>Ovino 5763 (0,5 mg/kg)</b>	Uréia (mg/dL)	<b>10,0</b>	<b>23,3</b>	8 – 10
	Creatinina (mg/dL)	1,81	1,96	1,2 – 1,9
Identificação do ovino e dose administrada	Bioquímica sérica	Horas após a administração 0h	10h	Valores de referência
<b>Ovino 5762 (1,0 mg/kg)</b>	Uréia (mg/dL)	---	<b>19,7</b>	8 – 10
	Creatinina (mg/dL)	---	1,33	1,2 – 1,9
<b>Ovino 5765 (1,0 mg/kg)</b>	Uréia (mg/dL)	<b>11,8</b>	<b>17,1*</b>	8 – 10
	Creatinina (mg/dL)	1,10	1,46*	1,2 – 1,9

\* Colheita de sangue realizada no momento da morte.

**Tabela 10.** Análises bioquímicas dos ovinos intoxicados experimentalmente com subdoses diárias de monofluoroacetato de sódio

Identificação do ovino e dose administrada	Bioquímica sérica	Horas após a administração		Valores de referência
		0h	86h	
<b>Ovino 5764 (0,1 mg/kg/dia)</b>	Uréia (mg/dL)	9,6	<b>24,5*</b>	8 – 10
	Creatinina (mg/dL)	1,57	1,97*	1,2 – 1,9

Identificação do ovino e dose administrada	Bioquímica sérica	0h	Horas após a administração				Valores de referência
			51h	86h	118h	122h	
<b>Ovino 5766 (0,2 mg/kg/dia)</b>	Uréia (mg/dL)	10,0	<b>15,1</b>	<b>20,7</b>	<b>21,8</b>	<b>23,0</b>	8 – 10
	Creatinina (mg/dL)	0,89	1,45	1,49	1,51	1,90	1,2 – 1,9

\* Colheita de sangue realizada no momento da morte.

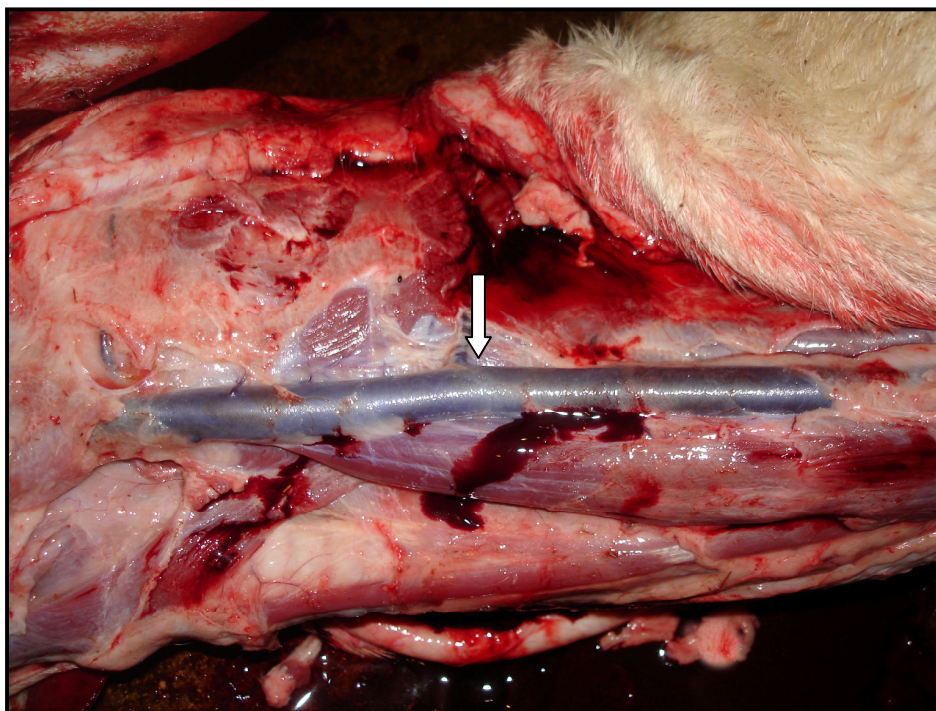
**Tabela 11.** Resultados dos exames ecocardiográficos realizados no ovino 5766 (0,2 mg/kg/dia)

Data e hora do exame após o início da administração do MF	Frequência cardíaca	Débito cardíaco	Fração de encurtamento sistólico do ventrículo esquerdo*	Átrio esquerdo	Valvas mitral, tricúspide e aórtica	Ventrículo esquerdo	Septo inter-ventricular	Aorta	Átrio direito	Ventrículo direito
23/04/2008 87h e 40min	136 bpm	3,3 L/m	<b>30%</b>	3,4 cm (aumentado)	Sem alterações	Parede com espessura normal (1,4 cm)	Espessura de 1,1 cm (normal)	Normal (1,8cm)	Levemente aumentado (2,4 cm)	Dimensões levemente aumentadas
24/04/2008 119h e 25min	166 bpm	2,6 L/m	<b>21%</b>	3,9 cm (aumentado)	Sem alterações	Parede com espessura normal (1,4 cm)	Espessura de 1,1 cm (normal)	Normal (1,8cm)	Levemente aumentado (2,5 cm)	Dimensões levemente aumentadas

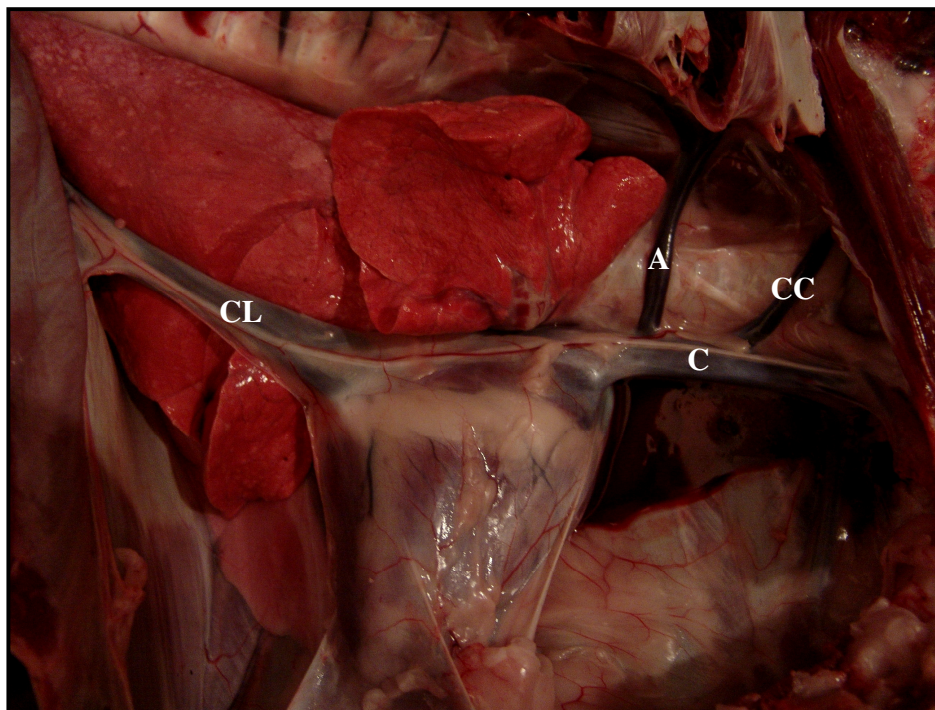
\*Valores de referência : 37,2% (MOSES; ROSS, 1987), 40% (RABBANI; AHMADI; FAYAZZADEH, 2006) e 42% (DODIC et al., 2001).

#### 4.4 Achados de Necropsia

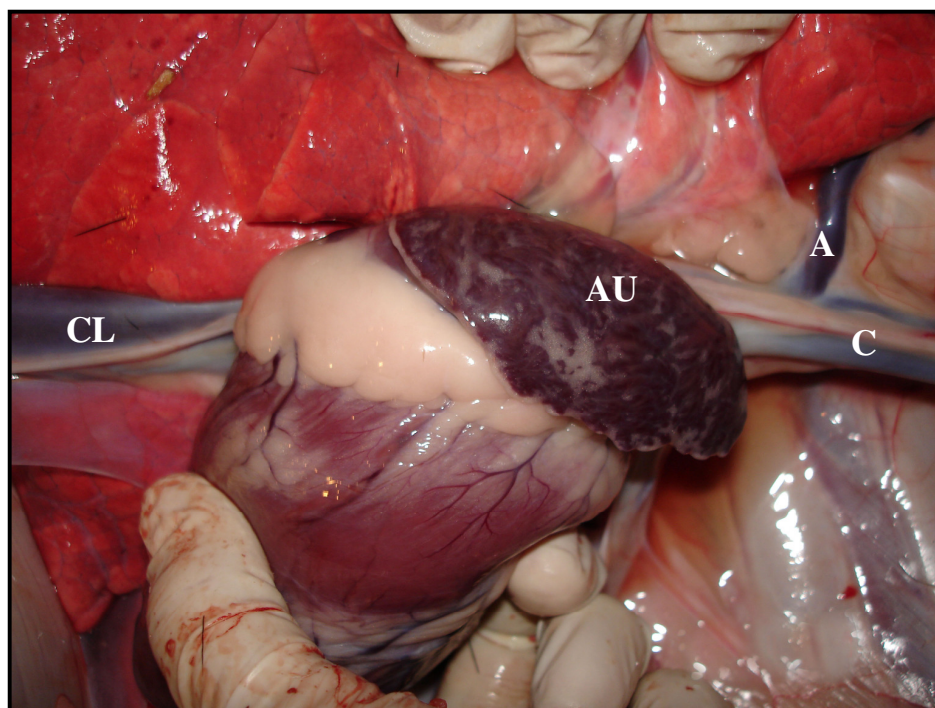
À necropsia, verificaram-se em todos os ovinos, aurículas, veias cava cranial e caudal, jugulares (Figura 16), ázigos, costo cervicais (Figura 17 e 18), ilíacas e pulmonares leve a acentuadamente ingurgitadas. Havia moderada dilatação cardíaca direita e esquerda no animal 5761 e 5766 e leve dilatação do ventrículo esquerdo no ovino 5765, bem como raras petéquias no epicárdio do animal 5764 e leve (5766) a moderado (5762) hidropericárdio. Observaram-se ainda leve a moderada presença de líquido espumoso (5761 e 5766), por vezes, avermelhado (5762, 5764 e 5765) da traquéia aos brônquios (Figura 19). No animal 5762, verificou-se também, presença de líquido espumoso avermelhado do esôfago até a base da língua. Os pulmões apresentavam-se com aspecto armado (5762 e 5766), pesados (5761 e 5762), brilhantes (5761), irregularmente avermelhados (5761 e 5765), leve a moderadamente congestos (5761 e 5764) e com pequenas áreas de atelectasia (5761). Os demais achados constituíram-se de raras petéquias (5766) e equimoses no pulmão (5762, 5765 e 5766), leve edema subpleural (5761) e leve (5764) a moderado (5762 e 5766) edema pulmonar (Figura 20).



**Figura 15.** Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Veia jugular acentuadamente ingurgitada (seta). Ovino 5765 (dose única de 1,0 mg/kg).

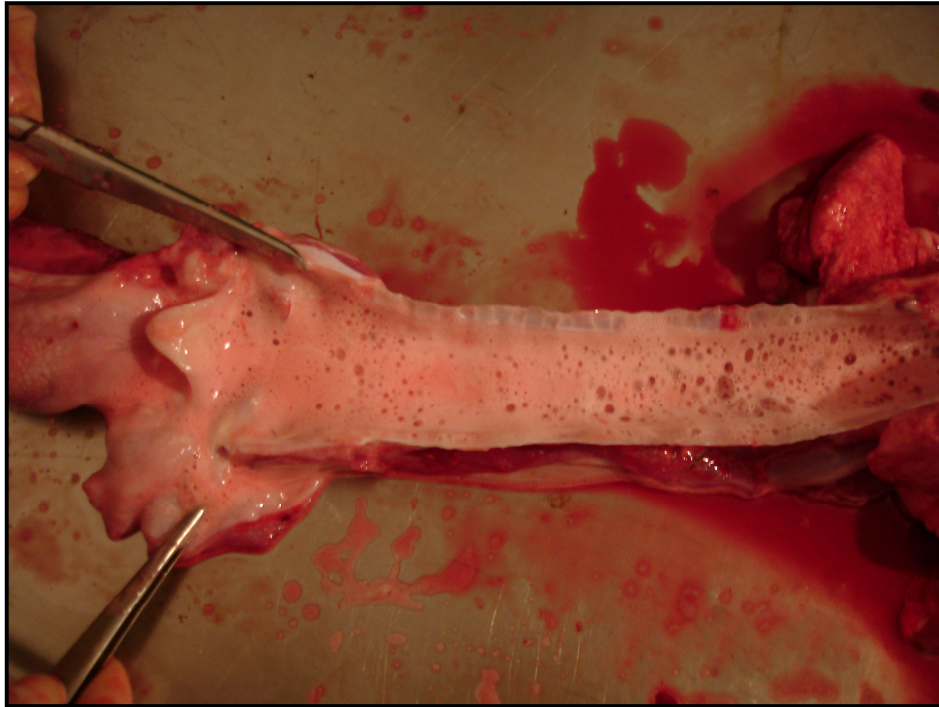


**Figura 16.** Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Veias cava caudal (CL) e cranial (C), ázigos direita (A), costo cervical (CC) repletas. Ovino 5765 (dose única de 1,0 mg/kg).



**Figura 17.** Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Ovino 5766 (doses repetidas de 0,2 mg/kg/6dias) com aurícula esquerda (AU), veias cava caudal (CL) e cranial (C) e ázigos direita (A) repletas.





**Figura 18.** Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Ovino 5762 (dose única de 1,0 mg/kg) com acentuado edema pulmonar caracterizado por espuma rosada na traquéia.



**Figura 19.** Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Ovino 5761 (dose única de 0,5 mg/kg) com acentuado edema pulmonar.

#### **4.5 Achados Histopatológicos**

O exame histopatológico evidenciou, no rim de todos os ovinos, discreta (5765 e 5762) a acentuada (5761, 5764 e 5766) degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais e, por vezes, túbulos retos (5764 e 5766), associada à picnose nuclear (Figuras 20 a 25). Havia ainda, leve congestão (5761 e 5766) e discreto infiltrado linfoplasmocitário intersticial (5762 e 5765). No fígado, em geral, observaram-se leve a moderada congestão, tumefação e vacuolização de hepatócitos predominantemente periportal, necrose individual aleatória de hepatócitos e, em um animal havia leve leucocitoestase (31265). No pulmão havia leve (5762, 5765 e 5766) a moderado (5761) edema e leve (5761, 5762 e 5764) a moderada (5765 e 5766) congestão. Nos demais órgãos não foram encontradas alterações significativas. Os principais achados histopatológicos observados no rim encontram-se na Tabela 13.

**Tabela 12.** Resultados dos experimentos com monofluoroacetato de sódio em ovinos (continua).

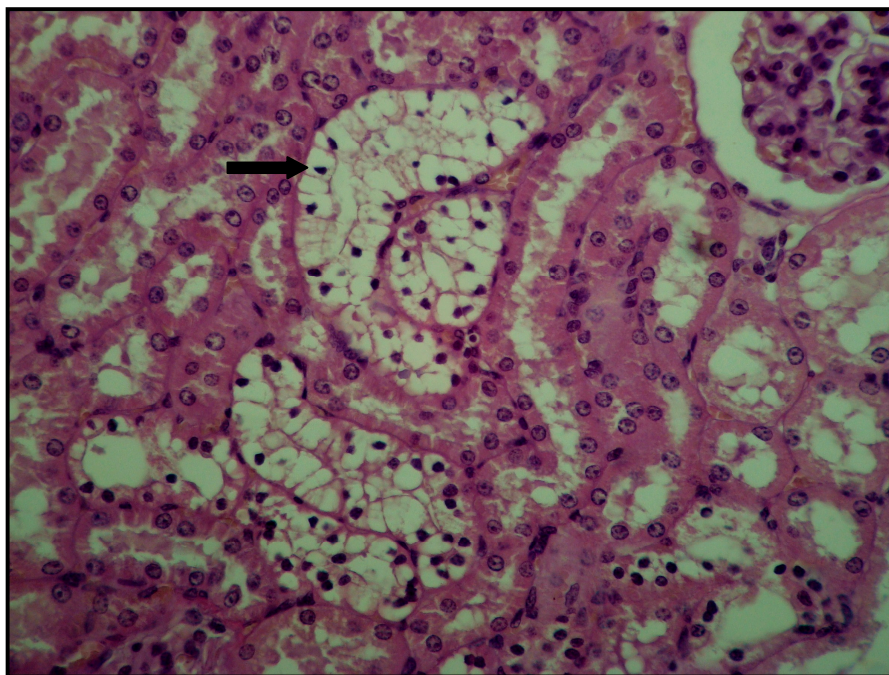
Identificação do ovino (Reg. SAP)	Peso (kg)	Dose do MF	Nº de administrações	Dose total (mg)	Início dos sinais clínicos após a administração	Evolução da intoxicação	Manifestações clínicas	Desfecho	Achados de necropsia
5761 (31260)	31	0,5 mg/kg	1	15,5	14 h e 6 min	7h 55 min	Poliúria, tremores musculares, taquicardia, taquipnéia, respiração abdominal, dispnéia, presença de espuma avermelhada saindo pelas narinas e boca, estertores, arritmia, apatia, prostração, perda de equilíbrio, andar cambaleante, apoiava a cabeça no flanco, decúbito esternal, movimentos de pedalagem e morte.	Morreu	<b>Aurículas, veias cava cranial e caudal, jugulares, ázigos, costo cervicais, ilíacas e pulmonares</b> leve a moderadamente ingurgitadas. Leve a moderada presença de líquido espumoso da traquéia aos brônquios. Modera dilatação cardíaca direita e esquerda. <b>Pulmões</b> – pesados, brilhantes, irregularmente avermelhados, leve a moderadamente congestos e com pequenas áreas de atelectasia. Leve edema subpleural.
5763	37	0,5 mg/kg	1	18,5	----*	----*	Sem sintomas	Sem sintomas	----*
5762 (31261)	19	1,0 mg/kg	1	19,0	13 h e 20 min	10 min	Taquicardia, taquipnéia, estertores, apatia, tremores musculares, perda de equilíbrio, andar cambaleante, apoiava a cabeça no flanco, respiração abdominal, subitamente começou a correr e pular até chocar-se contra a parede, decúbito esternal, opistótono, nistagmo, arritmia, movimentos de pedalagem e morte.	Morreu	<b>Aurículas, veias cava cranial e caudal, jugulares, ázigos, costo cervicais, ilíacas e pulmonares</b> leve a moderadamente ingurgitadas. Leve a moderada presença de líquido espumoso avermelhado da traquéia aos brônquios e, do esôfago até a base da língua. Moderado hidropericárdio. <b>Pulmões</b> – pesados e com aspecto armado, com algumas equimoses. Moderado edema pulmonar.
5765 (31265)	53	1,0 mg/kg	1	53,0	9 h e 44 min	3 min	Taquicardia, taquipnéia, subitamente começou a correr em círculos, perda de equilíbrio, andar cambaleante, respiração abdominal, apoiava a cabeça no flanco, nistagmo, jugulares ingurgitadas, decúbito esternal, arritmia, opistótono, movimentos de pedalagem e morte.	Morreu	<b>Aurículas, veias cava cranial e caudal, jugulares, ázigos, costo cervicais, ilíacas e pulmonares</b> leve a moderadamente ingurgitadas. Leve a moderada presença de líquido espumoso avermelhado da traquéia aos brônquios. Leve dilatação do ventrículo esquerdo. <b>Pulmões</b> – irregularmente avermelhados, com algumas equimoses.

\*Animal não manifestou sintomas

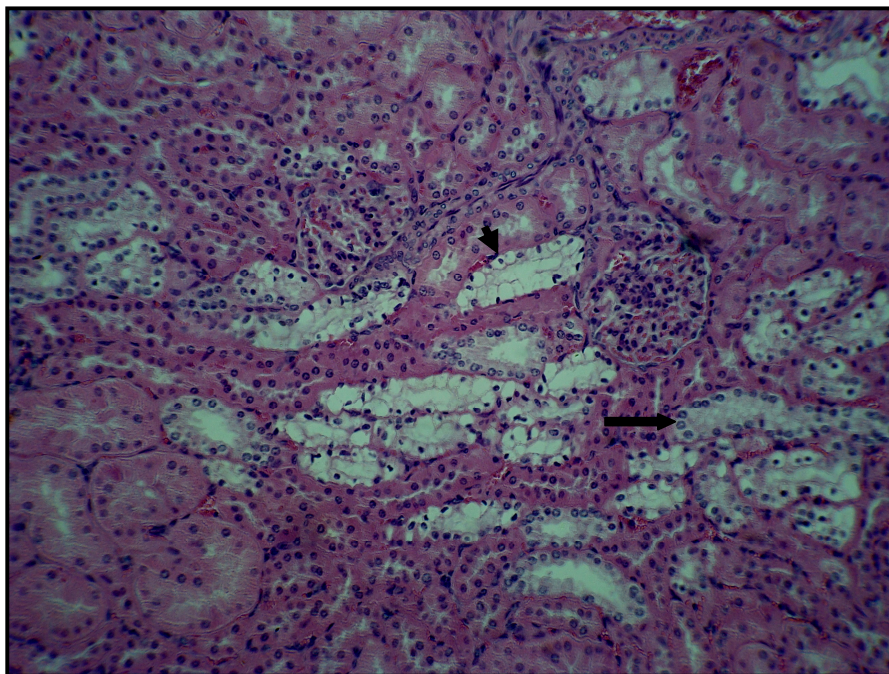
**Tabela 12.** Continuação.

5764 (31263)	36	0,1 mg/kg/dia	4	14,4 (3,6 mg/dia)	----**	----**	Encontrado morto	Morreu	<b>Aurículas, veias cava cranial e caudal, jugulares, ázigos, costo cervicais, ilíacas e pulmonares</b> leve a moderadamente ingurgitadas. Leve a moderada presença de líquido espumoso avermelhado da traquéia aos brônquios. Algumas petéquias no epicárdio. <b>Pulmões</b> – leve a moderadamente congestos. leve edema pulmonar.
5766 (31266)	44	0,2 mg/kg/dia	6	52,8 (8,8 mg/dia)	3 d 16 h e 31 min	33 h e 5 min	Taquicardia, taquipnéia, poliúria, tremores musculares, apatia, prostração, apoiava a cabeça no flanco, relutância em mover-se, andar cambaleante, perda de equilíbrio, respiração abdominal, arritmia, jugulares ingurgitadas e pulso venoso positivo, decúbito esternal, opistótono, movimentos de pedalagem e morte.	Morreu	<b>Aurículas, veias cava cranial e caudal, jugulares, ázigos, costo cervicais, ilíacas e pulmonares</b> leve a moderadamente ingurgitadas. Modera dilatação cardíaca direita e esquerda. Leve a moderada presença de líquido espumoso da traquéia aos brônquios. Leve hidropericárdio. <b>Pulmões</b> - aspecto armado, algumas petéquias e moderado edema pulmonar.
Controle	43	----	----	10 ml de água destilada	----	----	Sem sintomas	Sem sintomas	----

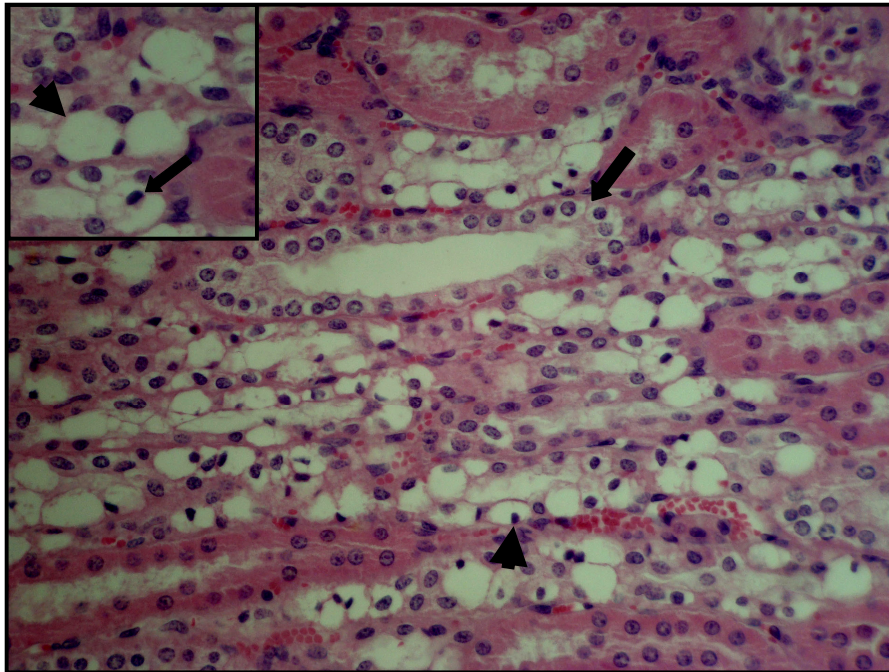
\*\*Animal encontrado morto



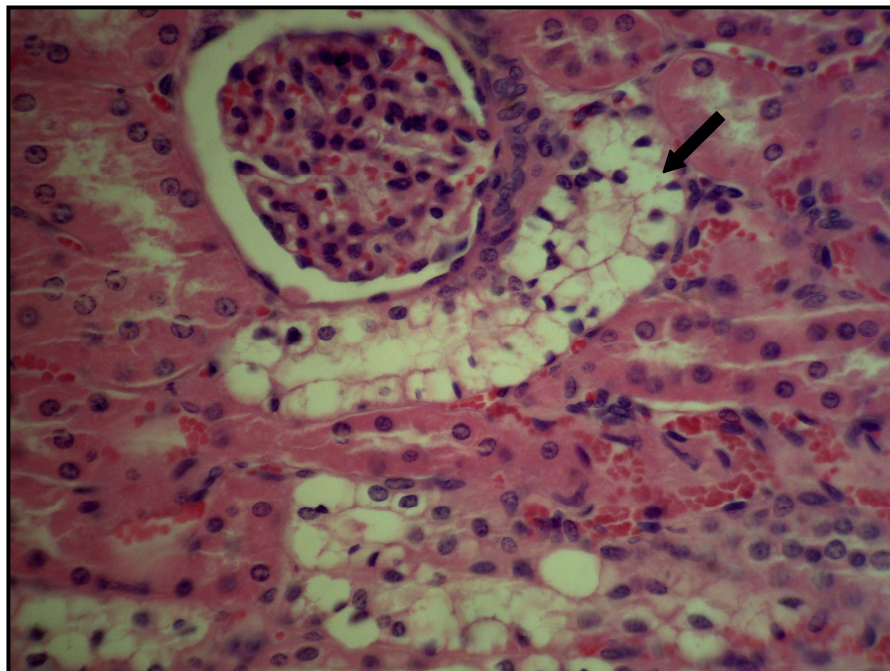
**Figura 20.** Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear (seta). Obj. 25. Ovino 5761 (dose única de 0,5 mg/kg).



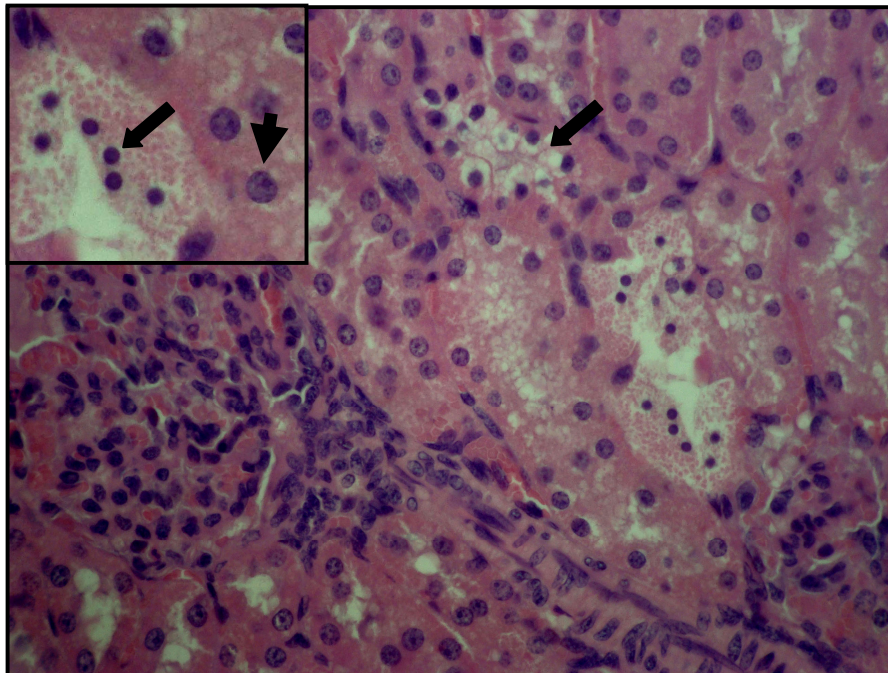
**Figura 21.** Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais. Lesão incipiente (seta) e lesão mais avançada (cabeça da seta) caracterizada por marcada picnose nuclear. Obj. 16. Ovino 5766 (dose repetidas de 0,2 mg/kg/6dia).



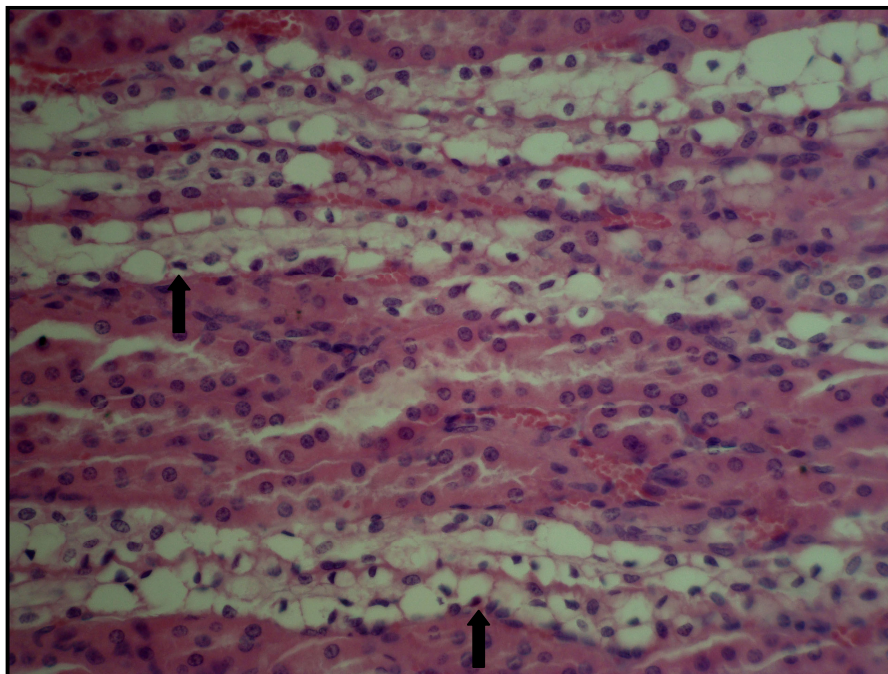
**Figura 22.** Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais (seta - lesão incipiente e cabeça da seta - lesão mais avançada, caracterizada por marcada picnose nuclear). No detalhe, picnose nuclear (seta) e vacuolização citoplasmática (cabeça da seta). Obj. 25. Ovino 5764 (dose repetidas de 0,1 mg/kg/4dia).



**Figura 23.** Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear (seta). Obj. 25. Ovino 5766 (dose repetidas de 0,2 mg/kg/6dia).



**Figura 24.** Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais. Lesão incipiente (seta). No detalhe, núcleos picnóticos (seta) e sem alteração (cabeça da seta). Obj. 40. Ovino 5762 (dose única de 1,0 mg/kg).



**Figura 25.** Aspectos clínico-patológicos e laboratoriais da intoxicação por monofluoroacetato de sódio em ovinos. Degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos retos associada à picnose nuclear (seta). Obj. 25. Ovino 5766 (dose repetidas de 0,2 mg/kg/6dia).

**Tabela 13.** Alterações histológicas observadas no rim de ovinos intoxicados por MF

<b>Identificação do ovino (Reg. SAP)</b>	<b>Dose do MF</b>	<b>Degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos contornados distais com picnose nuclear</b>	<b>Degeneração hidrópico-vacuolar das células epiteliais dos túbulos retos</b>	<b>Congestão</b>	<b>Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário intersticial</b>
5761 (31260)	0,5 mg/kg	+++	-	+	-
5762 (31261)	1,0 mg/kg	+	-	-	(+)
5765 (31265)	1,0 mg/kg	(+)	-	-	(+)
5764 (31263)	0,1 mg/kg/dia	+++	+	-	-
5766 (31266)	0,2 mg/kg/dia	+++	++	+	-

† Lesões: acentuada +++, moderada ++, leve +, discreta (+), ausente -.



## 5 DISCUSSÃO

Nos ovinos desse estudo, a administração de doses letais únicas de MF, assim como de frações da dose letal (1/2,5 e 1/5) repetidas diariamente, provocaram quadro clínico-patológico de “morte súbita”, isto é, uma intoxicação de evolução superaguda, que correspondeu, em diversos aspectos, ao observado nos casos de intoxicação por plantas brasileiras que causam a síndrome da “morte súbita”.

**Clinicamente**, os ovinos apresentaram, em geral, taquicardia, taquipnéia, arritmia, respiração abdominal, poliúria, tremores musculares, perda de equilíbrio e apoiavam a cabeça no flanco. Na “fase dramática”, os animais caíam em decúbito lateral, esticavam os membros, faziam movimentos de pedalagem, apresentavam opistótono, respiração ofegante e morriam em poucos minutos. Quadro semelhante foi descrito em ovinos experimentalmente intoxicados com *Palicourea marcgravii* (TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1986), *Pseudocalymma elegans* (CONSORTE; PEIXOTO; TOKARNIA, 1994) e *Mascagnia rigida* (VASCONCELOS et al., 2008) e nos casos, recentemente relatados, de intoxicação natural por *M. exotropicalis* (BANDARRA et al., 2007) e *M. rigida* (VASCONCELOS et al., 2008) em ovinos, bem como em diversos estudos realizados em caprinos (PACHECO; CARNEIRO, 1932a; TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1991; TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1993; VASCONCELOS et al., 2008), bovinos (MELLO; FERNANDES, 1940; DÖBEREINER; TOKARNIA, 1959; TOKARNIA; CANELLA; DÖBEREINER, 1961; CAMARGO, 1962; TOKARNIA et al., 1969; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1973; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1981; TOKARNIA; DÖBEREINER; SILVA, 1981; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1982; TOKARNIA et al., 1983; DÖBEREINER; TOKARNIA; SILVA, 1983; COSTA et al., 1984; TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 1985; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1986; TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1990; GAVA et al., 1998b; MEDEIROS et al., 2002; BARBOSA et al., 2003; TOKARNIA et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2004; BANDARRA et al., 2007; HELAYEL, 2008), búfalos (PACHECO; CARNEIRO, 1932a; BARBOSA et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2004; TOKARNIA et al., 2004) e coelhos (PACHECO; CARNEIRO, 1932a; TAVARES et al., 1974; DÖBEREINER; TOKARNIA, 1982; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1982; DÖBEREINER; TOKARNIA, 1983; DÖBEREINER; PEIXOTO; TOKARNIA, 1984; TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1985; DÖBEREINER et al., 1986; TOKARNIA; DÖBEREINER; CANELLA, 1987; PEIXOTO et al., 1987; JABOUR et al., 2006; HELAYEL, 2008) com as 12 plantas que causam “morte súbita”.

Adicionalmente observaram-se, **ao exame externo**, jugulares ingurgitadas (em 2 dos 5 animais = 2/5) e pulso venoso positivo (1/5). A **necropsia** revelou dilatação cardíaca direita e/ou esquerda (3/5), além de aurículas e grandes vasos da base do coração ingurgitados (5/5), achados clínicos e patológicos que só foram recentemente relatados em bovinos intoxicados experimentalmente com MF (NOGUEIRA, 2009) e por *P. elegans* (HELAYEL, 2008) e que, não haviam sido descritos em animais intoxicados por MF, nem nos experimentos realizados com plantas brasileiras que causam “morte súbita”, à exceção do pulso venoso positivo, que tem sido observado em bovinos intoxicados por *P. marcgravii* (TOKARNIA; DÖBEREINER, 1986; BARBOSA et al., 2003), *P. juruana* (TOKARNIA; DÖBEREINER, 1982; OLIVEIRA, et al., 2004), *Arrabidaea bilabiata* (DÖBEREINER; TOKARNIA; SILVA, 1983; TOKARNIA et al., 2004), *A. japurensis* (TOKARNIA; DÖBEREINER, 1981) e *M. aff. rigida* (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 1985) e pela jugular ingurgitada, que é relatada em casos de intoxicações por *P. marcgravii* (BARBOSA et al., 2003), *P. juruana* (OLIVEIRA, et al., 2004), *A. bilabiata* (TOKARNIA et al., 2004) e *M. exotropicalis* (GAVA et al., 1998b) em bovinos, além

de ovinos e caprinos intoxicados por *M. rigida* (VASCONCELOS et al., 2008). Acreditamos, contudo, que em uma avaliação clínico-patológica mais acurada, esses achados também podem ser observados nos casos de intoxicação pelas demais plantas desse grupo, sobretudo, quando a evolução for um pouco mais longa do que o comum, conforme o verificado por Helayel (2008); segundo Jones, Hunt e King (2000), tais achados podem ocorrer em animais que morrem de insuficiência cardíaca aguda.

O ovino (5762) intoxicado com 1,0 mg/kg de MF, após exibir leves tremores musculares, repentinamente começou a “**correr cegamente**” (*run around blindly*) dentro da baía até colidir contra a parede e morrer em poucos minutos. É interessante mencionar que esse achado já foi descrito em ovinos (BELL et al., 1955) e caprinos (BASSON et al., 1982) intoxicados, respectivamente por plantas australianas (*Acacia georginaea*) e africanas (*Dichapetalum cymosum*), que contêm MF como princípio ativo, bem como em outros dois ovinos experimentalmente intoxicados por esse composto (JENSEN; TOBISKA; WARD, 1948; SCHULTZ et al., 1982).

Tradicionalmente as diferentes espécies animais são classificadas em **categorias** (I, II, III e IV), em função do efeito provocado pelo MF. Esse sistema de classificação elaborado em 1946 por Chenoweth e Gilman (1946) foi recentemente contestado por Sherley (2004), que, após revisar a literatura relacionada ao quadro clínico manifestado por vertebrados intoxicados por MF, afirmou que esse método de classificação não considera o fato de que vários sinais dessa intoxicação são comuns à maioria das espécies animais e que há pouco embasamento para a divisão dos animais intoxicados por MF em grupos sintomáticos. Somos da opinião que essa classificação deve ser revista e complementada com os dados recentemente disponíveis. Por exemplo, Chenoweth e Gilman (1946) não realizaram experimentos com **bovinos e ovinos**, e, portanto, não agruparam essas espécies em nenhuma categoria. A nosso ver, tais espécies devem ser incluídas na **categoria I**, uma vez que o principal efeito do MF em bovinos (SCHNAUTZ, 1949; ROBINSON, 1970; JUBB; KENNEDY; PALMER, 2007; NOGUEIRA, 2009) e ovinos (JENSEN; TOBISKA; WARD, 1948, ANNISON et al., 1960; SCHULTZ et al., 1982) se faz sobre o coração, o que pôde ser evidenciado em nossos experimentos.

Em relação aos **equinos**, Chenoweth e Gilman (1946) incluíram essa espécie na **categoria I**, no entanto, afirmaram ser difícil determinar se havia, de fato, ausência de sintomas nervosos, uma vez que os animais foram anestesiados. Anos depois, outros autores descrevem sintomas referentes também ao SNC (EGEKEZE; OEHME, 1979a). Desta forma, acreditamos que essa espécie deva ser incluída na **categoria II**.

Já os **ratos e hamsters** foram agrupados na **categoria IV**, ou seja, animais que apresentam sintomatologia atípica, caracterizada por fraqueza e extrema bradicardia (CHENOWETH; GILMAN, 1946). Entretanto, esses sinais clínicos foram observados, no dia seguinte à administração do MF, em animais que sobreviveram e, a nosso ver, não deveriam ter sido tão valorizados. Controversamente, esses autores também descreveram sintomas iniciais caracterizados por tremores, alteração postural, hiperexcitabilidade e convulsões tônicas provocadas por estímulos mecânicos. De fato, estudos posteriores demonstraram que ratos intoxicados por esse composto apresentam típica sintomatologia nervosa, caracterizada, em especial, por frequentes convulsões (FOSS, 1948; EGEKEZE; OEHME 1979a; CUNHA, 2008). Além disso, em 1948, Foss observou que ratos e camundongos intoxicados por MF apresentavam sinais clínicos nervosos idênticos aos manifestados por cobaias. Convém lembrar que Chenoweth e Gilman (1946) verificaram que cobaias apresentam alterações nervosas semelhantes àquelas descritas em cães e, desta forma, são incluídos na **categoria III**. Contudo, somos da opinião que ratos e hamsters pertencem à **categoria III**. Desta forma, fica evidente que algumas

complementações e modificações devem ser feitas nesse tradicional sistema de classificação. No Anexo C apresentamos as modificações por nós propostas.

Os ovinos que receberam doses únicas de 1,0 mg/kg de MF apresentaram **evolução clínica** de poucos minutos (3 a 10min), muito semelhante ao observado nos experimentos de administrações únicas de *P. marcgravii* em ovinos (3 a 8min) (TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1986), bovinos (1 a 5min) (TOKARNIA; DÖBEREINER, 1986) e coelhos (1 a 5min) (PEIXOTO et al., 1987). Por outro lado, Jensen, Tobiska e Ward (1948) verificaram em ovinos experimentalmente intoxicados com doses únicas de 1,0 mg/kg de MF, evolução um pouco mais longa (15min a 1h).

Algumas considerações podem ser feitas a respeito do fato do ovino 5761 (0,5 mg/kg) ter apresentado **evolução mais longa** (7h55min) do que os outros animais desse estudo, que receberam doses únicas de MF e, por ter exibido acentuado sinais clínicos de **edema pulmonar**. Ao que tudo indica, essa divergência pode ser justificada, em parte, devido à dose administrada para esse animal ser limítrofe, ou seja, muito próxima da dose não letal. Também corrobora com essa hipótese o fato do ovino 5763, que recebeu a mesma dose (0,5 mg/kg) não ter mostrado sintomas de intoxicação. Cabe ressaltar que experimentos realizados por Jensen, Tobiska e Ward (1948), que visaram determinar a dose letal do MF para ovinos, doses de 0,25 mg/kg não foram capazes de provocar sintomas, enquanto doses de 0,5 mg/kg, apesar de ter causado sintomas e óbito, cursaram com evolução mais longa (variou de 1h35min a 1h45min) do que a observada em outros experimentos realizados com doses maiores (0,75; 1,0; 2,5 e 10 mg/kg). Em relação ao acentuado edema pulmonar verificado no ovino 5761 (0,5 mg/kg), outros autores também descreveram esse achado à necropsia de um ovino intoxicado com a mesma dose, cuja evolução da intoxicação foi longa (18h30min), além de outros sete ovinos (8/10) intoxicados com doses únicas, que variaram entre 0,5 e 1,0 mg/kg e, que, apresentaram evolução entre 4h35min e 9h (SCHULTZ et al., 1982). Convém reportar que, edema pulmonar foi descrito recentemente em dois bovinos (2/6) que receberam doses únicas de MF (NOGUEIRA, 2009) e, em outro, intoxicado com 0,5 g/kg de *P. elegans*, cuja evolução foi mais longa do que o comum (73h12min) (HELAYEL, 2008). De fato, segundo Jones, Hunt e King (2000), embora edema pulmonar não ocorra na insuficiência cardíaca aguda, esse achado pode ser observado em casos de insuficiência cardíaca em que a morte não é imediata, cuja evolução estende-se por um ou mais dias (JONES; HUNT; KING, 2000). É importante ressaltar que, ovinos intoxicados com doses iguais de MF apresentam algumas variações, no que diz respeito ao tempo decorrido entre a ingestão e o aparecimento dos primeiros sintomas, bem como na evolução da intoxicação e nos sinais clínicos apresentados (SCHULTZ et al., 1982). Tais variações também são descritas em bovinos intoxicados por plantas que causam “morte súbita” (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000), o que deve ser considerado como variação individual. Eisler (1995) considera que a variação na resposta individual ao MF pode ser atribuída à reduzida habilidade em converter o fluoroacetato em fluorocitrato. Por outro lado, Goncharov, Jenkins e Radilov (2005) sugerem que as diferenças de sensibilidade estão relacionadas à taxa metabólica do organismo, especificamente, do metabolismo oxidativo celular, que pode ou não favorecer a metabolização e a eliminação de substâncias tóxicas.

Embora os ovinos que receberam MF não tenham sido **exercitados**, é possível que o deslocamento do animal 5766, por cerca de 50 metros, bem como sua contenção física para a realização dos exames ecocardiográficos tenha precipitado (no caso do 1º exame) e intensificado (no caso do 2º exame) os sintomas da intoxicação, devido a uma maior liberação de adrenalina, da qual resulta taquicardia e fibrilação (NOGUEIRA, 2009). Convém lembrar que esse animal manifestou os primeiros sinais clínicos logo após o 1º exame ECG e que morreu 2 horas após o 2º

exame. A influência do exercício sobre o aparecimento dos sintomas, já foi descrita, de forma semelhante, em ovinos intoxicados com *P. marcgravii* (TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1986) e *Pseudocalymma elegans* (CONSORTE; PEIXOTO; TOKARNIA, 1994), assim como em bovinos intoxicados por MF (NOGUEIRA, 2009) e com plantas que causam “morte súbita” (DÖBEREINER; TOKARNIA, 1959; TOKARNIA; CANELLA; DÖBEREINER, 1961; TOKARNIA et al., 1969; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1973; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1981; TOKARNIA; DÖBEREINER; SILVA, 1981; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1982; DÖBEREINER; TOKARNIA; SILVA, 1983; TOKARNIA et al., 1983; TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 1985; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1986; TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1990; GAVA et al., 1998b; TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000; BARBOSA et al., 2003; OLIVEIRA, et al., 2004; TOKARNIA et al., 2004; HELAYEL, 2008).

Outra importante característica comum entre a intoxicação por plantas que causam “morte súbita” e por MF pôde ser evidenciada em nossos experimentos. Administrações diárias de 1/2,5 e 1/5 da dose letal do MF a ovinos demonstraram que esse composto possui **efeito acumulativo**, à semelhança com as descrições de ovinos intoxicados com frações da dose letal (1/2,5; 1/5 e 1/10) de *P. marcgravii* (TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1986) e (1/5, 1/10 e 1/20) de *Pseudocalymma elegans* (CONSORTE; PEIXOTO; TOKARNIA, 1994), bem como em diversos outros estudos realizados em bovinos intoxicados com plantas que causam “morte súbita” (TOKARNIA; CANELLA; DÖBEREINER, 1961; TOKARNIA et al., 1969; TOKARNIA; DÖBEREINER; SILVA, 1981; TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 1985; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1986; TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000). Convém dizer que embora o efeito acumulativo do MF já tenha sido demonstrado em ovinos (JARRETT; PACKHAM, 1956; ANNISON et al., 1960) e em coelhos silvestres (ROWLEY, 1963), já foi verificado que, sob certas condições experimentais, este composto não apresentou efeito acumulativo em ovinos (SCHULTZ et al., 1982). Acreditamos que a explicação para essa discordância envolva o intervalo de tempo entre as administrações do MF, uma vez que segundo McEwan (1978) esse composto possui efeito acumulativo apenas quando administrado em doses repetidas por curtos períodos. De fato, nos experimentos realizados por Schultz et al. (1982), em geral, o intervalo entre a administração das frações da dose letal foram muito longos, por exemplo, foram realizadas de 6 a 10 administrações de 0,1 mg/kg em um período de 33 a 66 dias. Nesse ponto, uma comparação pode ser feita com os experimentos de acumulação realizados com plantas que causam “morte súbita”. Em bovinos, a administração de 1/2 da dose letal das folhas dessecadas de *M. pubiflora*, repetidas quatro vezes, com intervalos de uma semana mostraram que, em tais condições, a planta também não tem efeito acumulativo (TOKARNIA, DÖBEREINER, 1973). O mesmo foi observado em experimentos com folhas dessecadas de *P. juruana* administradas a bovinos em doses semanais de 1/5 e 1/10 da dose letal durante 7 a 18 semanas respectivamente (TOKARNIA; DÖBEREINER, 1982). Não obstante, Tokarnia e Döbereiner (1986) demonstraram que a administração de doses correspondentes a 1/5, 1/10 e 1/20 da dose letal de folhas dessecadas de *P. marcgravii* a bovinos, com intervalos de uma semana, durante 25, 30 e 30 semanas respectivamente, não é capaz de provocar sintomas, ao passo que, administrações diárias de 1/5 e 1/10 da dose letal, evidenciaram o efeito acumulativo da planta. Com a redução do intervalo entre as administrações os bovinos manifestaram sintomas e morreram após a 5ª e 50ª administração respectivamente. É interessante dizer que alguns autores atribuem o efeito acumulativo do MF, em grande parte, à baixa velocidade de eliminação desse composto pelo rim (CHENOWETH, 1949).

A **avaliação ecocardiográfica** realizada no ovino 5766 evidenciou, inicialmente, moderada redução da fração de encurtamento (FE) sistólico do ventrículo esquerdo (30%), a qual tornou-se marcada (21%), após aproximadamente 32 horas. A comparação dos valores por nós obtidos com aqueles considerados referência para ovinos, 37,2% (MOSES; ROSS, 1987), 42% (DODIC et al., 2001) e 40% (RABBANI; AHMADI; FAYAZZADEH, 2006), permite clara evidência do comprometimento da função cardíaca induzido pelo MF. Achados similares (FE = 32,4% e 29,5%) foram recentemente descritos em ovinos intoxicados com 20 g/kg de *M. rigida* (LAGO et al., 2009). De acordo com alguns autores, a redução da fração de encurtamento ocorre nos estágios iniciais da insuficiência cardíaca e indicam alterações de ordem ventricular (KITTLESON; KIENLE, 1998; SILVA; MELO; MUZZI, 2008).

O moderado a acentuado aumento dos **níveis de uréia**, observado em todos os ovinos do presente estudo, bem como do discreto aumento de creatinina verificado em 50% dos animais são indicações seguras de que o MF realmente lesa o rim, provavelmente, durante o processo de excreção. Também corrobora com essa hipótese o fato de homens intoxicados por MF desenvolverem variáveis graus de azotemia (e uremia) até o ponto de ocorrer insuficiência renal (CHUNG, 1984). Convém dizer que, embora os ovinos desse estudo tenham apresentado azotemia, não foram observados quaisquer sinais clínicos de uremia.

Embora os ovinos do nosso estudo, intoxicados por MF não terem apresentado **alterações macroscópicas** específicas à necropsia, Goh et al. (2005) afirmam que o estabelecimento do *rigor mortis* é antecipado. Entretanto, na literatura não existem relatos dessa alteração, na marcha natural dos fenômenos cadavéricos, em bovinos intoxicados por plantas que causam “morte súbita”, uma vez que a necropsia é realizada, sempre que possível, imediatamente após a morte. Desta maneira, nunca foi dada atenção a esse detalhe. É provável que, nesses casos, o *rigor mortis* também seja precocemente estabelecido, em consequência da depleção dos níveis de ATP. De fato, recentemente foi observado quadro idêntico em ratos intoxicados, por via oral, com extratos aquosos das folhas dessecadas de *P. marcgravii* e *M. exotropica*. Nesses experimentos, verificou-se o desenvolvimento do *rigor mortis*, em até 13 minutos, após o óbito dos animais (PEIXOTO et al., 2009 dados-não-publicados).

Outra semelhança curiosa entre a intoxicação pelos frutos de *P. marcgravii* (MARTIUS, 1843; HOEHNE, 1939) e por MF (CALVER; KING, 1986), diz respeito ao uso popular de ambos, inicialmente, como eficazes agentes rodenticidas.

No presente estudo, a administração do MF em doses únicas ou em frações diárias da dose letal aos ovinos determinou, em todos os casos com desfecho fatal, o aparecimento da **clássica degeneração hidrópico-vacuolar** dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear, lesão idêntica à descrita em 1959 por Döbereiner e Tokarnia no rim de bovinos intoxicados com doses únicas de *P. marcgravii* e, mais tarde observada também no rim de bovinos intoxicados natural e experimentalmente com todas as outras plantas brasileiras que causam “morte súbita” (Anexo B) (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000; BARBOSA et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2004; HELAYEL, 2008), bem como em ovinos (TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1986; CONSORTE; PEIXOTO; TOKARNIA, 1994), caprinos (TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1993) e em coelhos (PEIXOTO et al., 1987; HELAYEL, 2008) intoxicados experimentalmente por plantas desse grupo. Convém ressaltar que estudos experimentais complementares verificaram que administrações diárias de frações da dose letal de *P. marcgravii* (TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1986) e *Pseudocalymma elegans* (CONSORTE; PEIXOTO; TOKARNIA, 1994) a ovinos, assim como de *P. marcgravii* (TOKARNIA; PEIXOTO; DÖBEREINER, 1986), *P. grandiflora* (TOKARNIA; DÖBEREINER; SILVA, 1981) e *Mascagnia rigida* (TOKARNIA; CANELLA; DÖBEREINER,

1961) a bovinos também induzem a típica DHV túbulos uriníferos contornados distais. Essa lesão diferencia-se das degenerações que ordinariamente ocorrem nas células epiteliais do rim pela acentuada tumefação citoplasmática associada à evidente picnose nuclear e por sua peculiar distribuição seletiva, quase exclusiva, aos túbulos uriníferos contornados distais, uma vez que só ocasionalmente afeta também os túbulos retos (TOKARNIA; DÖBEREINER, 1986).

Em relação à degeneração hidrópico-vacuolar, embora tumefação celular e degeneração hidrópica sejam alterações comuns no epitélio tubular, à exceção das descrições sobre lesões renais secundárias à ingestão de plantas que causam “morte súbita” no Brasil (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000), não encontramos na literatura menção de outras substâncias que causam esse tipo especial de lesão, ou pelo menos não foram descritas como tal.

De fato, DHV tem sido observada em envenenamentos por diversas substâncias como dioxano (JONES; HUNT, 1983) e selenito de sódio (KHATTAB, 2007), porém, nestes casos, a alteração não está restrita aos túbulos distais e, no primeiro, não cursa com evidente picnose nuclear. Por outro lado, diversas outras substâncias como cisplatina (FILLASTRE; RAGUENEZ-VIOTTE, 1989), dicromato de potássio (CRISTOFORI et al., 2007), glicerol 50% (RODRIGO et al., 2004) e solução de ácido tartárico (FRIEDMAN; KAPLAN, 1943), causam DHV específica dos túbulos uriníferos contornados proximais, sem afetar os túbulos distais.

Em trabalhos experimentais ou em intoxicações acidentais ou intencionais com MF em animais, também não encontramos quaisquer referências a esse tipo de lesão, no entanto, frequentemente descrevem-se degeneração e necrose tubular. Não é conhecida a razão pela qual essa lesão, até o momento, ainda não tenha sido relatada em casos de intoxicação por MF. Contudo, é provável que em parte dos estudos conduzidos com MF, o rim não foi o órgão objeto das principais análises e, desta maneira não foram realizados exames histológicos mais acurados. Acreditamos ainda, que possa haver discordância quanto à nomenclatura empregada. De fato, a análise das fotomicrografias publicadas por Cater e Peters (1961), que estudaram as lesões renais induzidas pela inoculação intraperitoneal de fluorocitrato em ratos, permite a visualização de lesão semelhante à DHV, no entanto, essa lesão foi descrita como marcada “degeneração gordurosa” dos túbulos contornados. Da mesma forma, em uma análise mais cuidadosa das fotomicrografias publicadas por Collicchio-Zuanaze (2006) que estudou as alterações histológicas renais em gatos intoxicados experimentalmente com MF, verifica-se que as lesões apresentadas, em parte, são semelhantes àquelas observadas nos rins de animais que ingerem plantas que causam “morte súbita”, embora tenha descrito apenas degeneração tubular e hialina e necrose tubular. Também foi descrito necrose do epitélio tubular em bovinos intoxicados por MF (JOON et al., 1982). De fato, se considerarmos que a picnose nuclear indica células inviáveis e, portanto mortas, não estaria errado denominar de necrose a DHV com picnose. Lim, Jensen e King (1975) relataram que, em ratos intoxicados experimentalmente com fluoreto de sódio, há degeneração e necrose dos túbulos contornados, mas a análise das fotomicrografias publicadas, a lesão também é semelhante à DHV com picnose.

Convém discutir outra questão referente à **nomenclatura**. Segundo Nieberle e Cohrs (1966), a degeneração hidrópica ocorre de duas formas morfológicas e patogeneticamente distintas, uma denominada de vacuolar e, outra de vesicular. A degeneração hidrópico-vacuolar é caracterizada pelo rápido aparecimento de vacúolos citoplasmáticos (em casos experimentais ocorre entre 20 e 30min) sem alterações nucleares. Por outro lado, no caso da degeneração hidrópico-vesicular, as células apresentam-se aumentadas de tamanho (células vesiculares) e exibem picnose nuclear. Tais alterações degenerativas vesiculares se desenvolvem lentamente (mais de 2 ou 3 dias). Entretanto, esses autores afirmam que podem ocorrer formas intermediárias entre esses dois tipos de degeneração hidrópica. Frente ao exposto, não seria errado designar a

degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos contornados distais com picnose nuclear, detectada e denominada como tal por Döbereiner e Tokarnia (1959) e, verificada em nossos estudos experimentais em ovinos, bem como recentemente em bovinos (NOGUEIRA, 2009) intoxicados por MF, como degeneração hidrópico-vesicular dos túbulos uriníferos contornados distais.

Por outro lado, nos casos de intoxicação por **plantas africanas** (*Dichapetalum* spp.) e **australianas** (*Gastrolobium* spp., *Oxylobium* spp. e *A. georginae*), que contêm MF como princípio ativo, cuja ingestão determina um quadro clínico-patológico de “morte súbita”, muito semelhante ao que ocorre na intoxicação pelas SDCP brasileiras (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000), essa típica lesão renal não tem sido mencionada, ou pelo menos não foram descritas como tal. Contudo, a análise mais cuidadosa das descrições feitas por Steyn (1928) acerca das lesões renais observadas em animais intoxicados por *Dichapetalum cymosum* – “*In these areas the staining of the tubuli were fainter than that of the adjoining tissues. These changes in the kidney can be described as a localized necrobiosis*”, bem como do que foi descrito por Kamau et al. (1978) em ratos intoxicados por *D. ruhlandii* – “*degenerative changes involving primarily the hepatocytes, and convoluted tubes of the kidneys*” sugere que a DHV também ocorra nesse tipo de intoxicação, apenas não foi descrita como tal. Em relação à intoxicação por *Gastrolobium* spp. e *Oxylobium* spp. é provável que o mesmo tenha ocorrido, uma vez que Gardner e Bennetts (1956), no livro “The Toxic Plants of Western Australia” menciona “*toxic changes particularly in the epithelium of the convoluted tubules*”.

Na **literatura humana**, relacionada à intoxicação por esse composto, também não encontramos referências específicas à ocorrência desse tipo de lesão renal. Pode-se inferir que em seres humanos a DHV dos túbulos uriníferos contornados distais não ocorra ou esteja associada a alterações ainda mais graves (necrose coagulativa), que são morfológicamente mais evidentes que a DHV, exatamente como ocorre em casos de intoxicações por *P. marcgravii* e *P. elegans* em equinos, os quais desenvolvem, predominantemente, necrose coagulativa de túbulos uriníferos e, em menor extensão, DHV (TOKARNIA et al., 1993; 1995).

Antes da reprodução da DHV demonstrada neste estudo e recentemente em bovinos intoxicados por MF (NOGUEIRA, 2009), já havia evidências circunstanciais muito fortes de que o MF seria a causa, ou pelo menos um dos compostos importantes na determinação da morte dos animais que ingerem plantas que causam “morte súbita”. De fato, diversos outros compostos que já foram isolados dessas plantas, sobretudo de *P. marcgravii*, como alcalóides (GUIMARÃES, 1934; BARNES; GILBERT, 1960; GAGNIN; MARAVALHAS, 1969; MORITA et al., 1989), saponinas (GUIMARÃES, 1934; MELLO; FERNANDES, 1940; BARNES; GILBERT, 1960), ácidos málico, palicúrico e mioctônico (PECKOLT, 1868), salicilato de metila, cristais de oxalato de cálcio (COELHO et al., 2007), tanóides (GUIMARÃES, 1934), ácidos salicílico e o-metoxibenzóico (CASCON; MORS, 1962), cafeína (GÓRNIK, 1988), alcalóides N-metiltiramina (CASCON; MORS, 1962; KEMMERLING, 1996) e 2-metiltetrahydro- $\beta$ -carbolina (KEMMERLING, 1996) não induzem o quadro clínico-patológico acima descrito e, muito menos a DHV. Além disso, o quadro clínico observado em bovinos, ovinos, caprinos, equinos, cães, coelhos e em ratos intoxicados experimentalmente por plantas do grupo das que causam “morte súbita” corresponde totalmente ao observado quando esses animais são intoxicados por MF, conforme demonstrado no Anexo C. Bovinos, ovinos e coelhos desenvolvem quadro de insuficiência cardíaca aguda (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000), ratos mostram sintomas relacionados ao SNC (PINTO et al., 2008) e os equinos, sinais clínicos relativos aos dois sistemas (TOKARNIA et al., 1993; 1995). Entretanto, outros autores são da opinião que o MF não seria o princípio determinante das mortes dos animais que ingerem essas plantas (HABERMEHL, 1986; GONZÁLES et al., 2000) ou que haveria outros compostos que poderiam

causar a morte dos animais (PECKOLT, 1868; CORRÊA, 1869; GUIMARÃES, 1934; HOEHNE, 1939; MELLO; FERNANDES, 1940; GÓRNIK et al., 1986), ter efeito sinérgico com o MF (KEMMERLING, 1996) ou contribuir para a toxicidade da planta (GÓRNIK, 1988; COELHO et al., 2007).

Algumas considerações devem ser feitas em relação à parte dos animais intoxicados por plantas que causam “morte súbita” não desenvolverem a típica DHV. Acreditamos que alguns fatores como a quantidade ingerida da planta e o tempo de evolução da intoxicação sejam fundamentais na gênese dessa lesão. Sabe-se que quanto maior a dose ingerida de *P. marcgravii* (TOKARNIA; DÖBEREINER, 1986) ou MF (JENSEN; TOBISKA; WARD, 1948; PATTISON, 1959), mais curto é o período para o aparecimento dos sintomas. Portanto, parece razoável que animais que ingeriram maiores quantidades de MF, contido ou não em plantas, morram por parada cardíaca antes que a eliminação desse composto ou de seus metabólitos tenha induzido a lesão renal. De fato, segundo Eason et al. (1994) a maior parte do MF é excretada pela urina, principalmente, durante as primeiras 48 horas após a ingestão desse composto, o que justifica a ausência ou a menor intensidade dessa lesão em casos cuja evolução é mais curta. Além disso, Tokarnia e Döbereiner já haviam verificado em 1986, que há uma nítida tendência, pela qual quanto maior o tempo decorrido entre a administração de *P. marcgravii* e a morte dos bovinos, maior a incidência e a intensidade da DHV (Anexo D). Tendência similar ocorre também nas intoxicações por outras plantas brasileiras que causam “morte súbita” (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000), nas quais, em geral, verifica-se, que há, em função da dose ingerida, uma correlação positiva entre evolução longa e desenvolvimento da DHV. Tal constatação acima descrita constituiu outro interessante ponto em comum entre os ovinos de nosso estudo, intoxicados por MF, e a intoxicação por plantas que causam “morte súbita”. A administração de doses altas (1,0 mg/kg) de MF aos ovinos, também provocou o aparecimento dos primeiros sintomas em um período de tempo mais curto, além de cursar com uma evolução menor e causar DHV de menor intensidade, quando comparado aos animais que receberam doses menores (0,5 mg/kg) ou frações da dose letal (0,1 e 0,2 mg/kg) repetidas diariamente.

Diversos autores afirmam que embora os animais intoxicados por MF manifestem marcados sinais clínicos (EGEKEZE; OEHME, 1979a), o **diagnóstico** dessa intoxicação é difícil, uma vez que tanto o quadro clínico (CHI et al., 1996; CHI; LIN; CHEN, 1999; O'HAGAN, 2004), quanto os achados de necropsia (EASON; GOONERATNE; RAMMELL, 1994; EGEKEZE; OEHME, 1979a) podem ser inespecíficos. Além disso, segundo Egekeze e Oehme (1979a) o exame histopatológico é de pouco valor no diagnóstico dessa intoxicação (EGEKEZE; OEHME, 1979a). Desta forma, até hoje, tem sido preconizado, que a confirmação do diagnóstico da intoxicação por MF deve ser realizada através de análises toxicológicas que identifiquem esse composto (SAKAI; MIYAHARA, 1981; EASON; GOONERATNE; RAMMELL, 1994). Antes de tudo, devemos ressaltar que em 1959, Döbereiner e Tokarnia já consideravam a DHV dos túbulos uriníferos contornados distais muito típica e de grande valor no estabelecimento do diagnóstico da intoxicação por *P. marcgravii* em bovinos e, mais tarde, também foi demonstrada a importância diagnóstica dessa lesão na intoxicação pelas outras 11 plantas que causam “morte súbita” no Brasil (TOKARNIA; DÖBEREINER; PEIXOTO, 2000; BARBOSA et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2004; HELAYEL, 2008; OLIVEIRA et al., 2004), das quais, sabemos hoje, que três delas contêm MF como princípio ativo (OLIVEIRA, 1963; KREBS; KEMMERLING; HABERMEHL, 1994; CUNHA, 2008) e, possivelmente, também as outras nove plantas desse grupo possuam essa substância. Contudo, a nosso ver, a DHV dos túbulos uriníferos contornados distais é de grande valor no diagnóstico da intoxicação por MF e a sua ocorrência sempre deve ser investigada em casos onde haja a suspeita dessa intoxicação, uma vez que essa lesão se



mostrou muito característica tanto nos ovinos desse estudo, como em bovinos recentemente intoxicados por esse composto (NOGUEIRA, 2009).

O **diagnóstico diferencial** entre a intoxicação por MF e plantas que causam “morte súbita”, deve ser realizado, sobretudo, com base nos dados epidemiológicos, uma vez que não há quaisquer diferenças clínico-patológicas. Entretanto, devemos lembrar que, ao contrário do que ocorre em bovinos, a intoxicação de ovinos por plantas desse grupo, sob condições naturais, é pouco comum. São descritos apenas alguns surtos de intoxicação por *M. rigida* na Paraíba (VASCONCELOS et al., 2008) e por *M. exotropa* no Rio Grande do sul (BANDARRA et al., 2007). Embora a intoxicação criminosa por MF deva ser considerada em casos de “morte súbita” de ovinos, acreditamos que sua ocorrência seja pouco provável, pois a comercialização desse composto é proibida no país (ADESP, 2007). Por outro lado, sabe-se que este composto ainda é ilegalmente comercializado por ambulantes (APEVISA, 2009) e que, se armazenado sob condições adequadas, a sua toxidez é mantida por décadas (EISLER, 1995). Convém ressaltar ainda que, recentemente, pelo menos 73 animais de diversas espécies morreram intoxicados, de forma criminosa, por esse composto na Fundação Parque Zoológico de São Paulo (ORTIS, 2005).

Contudo, esse trabalho demonstra que tanto doses letais únicas como subdoses diárias de MF induzem a DHV dos túbulos uriníferos contornados distais em ovinos. O que torna evidente que o desenvolvimento de estudos no Brasil que envolvam a **metabolização do MF por bactérias ruminais** tem grande aplicabilidade econômica, uma vez que pelo menos 600.000 bovinos morrem, anualmente, intoxicados por plantas que causam “morte súbita”. Cabe ressaltar que pesquisadores australianos modificaram geneticamente a bactéria ruminal *Butyrivibrio fibrisolvens*, através da introdução de um gene isolado de *Moxarella* sp., que codifica uma dehalogenase, capaz de hidrolizar o MF tornando-o inócuo (GREGG et al., 1994, 1998). A implementação dessa tecnologia no rebanho bovino brasileiro seria uma **técnica profilática viável** contra a intoxicação por plantas que contêm o MF como princípio ativo.

## 6 CONCLUSÕES

- O quadro clínico-patológico da intoxicação por MF em ovinos corresponde ao observado nos casos de intoxicação por plantas brasileiras que causam “morte súbita”.
- Através de administrações diárias de 1/2,5 e 1/5 da dose letal do MF a ovinos demonstrou-se que, esse composto tem efeito acumulativo, à semelhança com o verificado em estudos realizados em animais intoxicados com plantas do grupo das que causam “morte súbita”.
- A alteração do funcionamento cardíaco (marcada redução da fração de encurtamento) induzido pelo MF pode ser detectada através do exame ecocardiográfico.
- A intoxicação por MF em ovinos cursa com azotemia, provavelmente, decorrente da lesão renal desenvolvida durante o processo de excreção renal dessa substância.
- Esse trabalho demonstra que, tanto doses letais únicas quanto subdoses diárias de MF induzem a degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear em ovinos, à semelhança com as recentes descrições de bovinos intoxicados com doses únicas desse composto, o que confirma que essa substância é o princípio tóxico determinante da morte dos animais intoxicados por plantas brasileiras que causam “morte súbita”.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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: 07 jul. 2007.
- ALLENDER, W. J. Determination of sodium fluoroacetate (compound 1080) in biological tissues. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 14, p. 45-49, 1990.
- ANNISON, E. F. et al. 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=1066&pagina=2&publicar=1>>. Acesso em: 20 fev. 2009.
- APLIN, T. E. H. Poisonous plants of Western Australia. The toxic species of the genera *Gastrolobium* and *Oxylobium*. **Journal of Agriculture of Western Austrália**, v. 8, p. 42, 1967.
- APTEKMAN, K. P. et al. Estudo retrospectivo de felinos intoxicados por monofluoroacetato de sódio. In: MOSTRA CIENTÍFICA DA FMVZ-UNESP, 7., 2003, Botucatu, 2003. **Anais...** Botucatu: [s.n.], p. 58, 2003.
- 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.
- AULERICH, R. J.; RINGER, R. K.; SAFRONOFF, J. Primary and secondary toxicity of warfarin, sodium monofluoroacetate, and methyl parathion in mink. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 16, p. 357-366, 1987.
- AUSTRALIA. 1080 (sodium fluoroacetate) General background and benefits as a pest animal management toxin in Australia. **NSW Agriculture's submission to the National Registration Authority for 1080 Review**, p. 1-32, 2003.
- BALCOMB, R.; BOWEN II, C. A.; WILLIAMSON, H. O. Acute and sublethal effects of 1080 on starlings. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 31, n. 6, p. 692-698, 1983.
- 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.
- BALLARD, C. L.; HYDE, P. M. Effect of insulin on blood glucose and corticosterone levels in sodium fluoroacetate induced diabetes. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 124, n. 1, p. 317-320, 1967.

BANDARRA, P. M. et al. Intoxicações em ruminantes por *Mascagnia* sp. no Rio Grande do Sul diagnosticadas no Setor de Patologia Veterinária (SPV-UFRGS). In: ENCONTRO DE PATOLOGIA VETERINÁRIA, 13., 2007, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: [s.n.], 2007. Não paginado.

BAPTISTA-LACERDA, J. "De variis plantis veneniferis, florae Brasiliensis", **Arquivos do Museu Nacional**, v. 15, p. 1-137, 1909.

BARBOSA, J. D. et al. Comparação da sensibilidade de bovinos e búfalos à intoxicação por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 23, n. 4, p. 167-172, 2003.

BARNES, R. A.; GILBERT, M. E. A. Investigação química preliminar de várias plantas brasileiras: Presença de alcalóides, saponinas e outras substâncias. **Boletim do Instituto de Química Agrícola**, v. 58, p. 9-26, 1960.

BARON, M. L. et al. Detection and measurement of fluoroacetate in plant extracts by <sup>19</sup>F-NMR. **Phytochemistry**, v. 26, n. 8, p. 2293-2295, 1987.

BARROS, C. S. L.; DRIEMEIER, D. Intoxicação por organofosforados e carbamatos. In: RIET-CORREA, F. et al. **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. 3. ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. p. 80-85.

BARROS, C. S. L. Deficiência de selênio e vitamina E. In: RIET-CORREA, F. et al. **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. 3. ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. p. 257-263.

BASSON, P. A. et al. Antelopes and poisonous plants. I. Gifblaar *Dichapetalum cymosum* (Hooker) Engler & Prantl containing monofluoroacetate. **Madoqua**, v. 13, n. 1, p. 59-70, 1982.

BEASLEY, M. **Guidelines for the safe use of sodium fluoroacetate (1080)**. New Zealand: Occupational Safety & Health Service. 2002. 20 p.

BELL, A. T. et al. *Acacia georginae* poisoning of cattle and sheep. **Australian Veterinary Journal**, v. 31, p. 249-257, 1955.

BENNETS, H. W.; BECK, A. B.; HARLEY, R. The pathogenesis of "falling disease". **Australian Veterinary Journal**, v. 24, p. 237-324, 1948.

BOSAKOWSKI, T.; LEVIN, A. A. Serum citrate as a peripheral indicator of fluoroacetate and fluorocitrate toxicity in rats and dogs. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 85, n. 3, p. 428-436, 1986.

BOSAKOWSKI, T.; LEVIN, A. A. Comparative acute toxicity of chlorocitrate and fluorocitrate in dogs. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 89, n. 1, p. 97-104, 1987.

BOWMAN, R. H. Inhibition of citrate metabolism by sodium fluoroacetate in the perfused rat heart and the effect on phosphofructokinase activity and glucose utilization. **Biochemical Journal**, v. 93, n. 2, p. 13-15, 1964.

BRASIL, 1997. 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: 15 fev. 2009.

BRISCOE, H. V. A. **Report to Director of Research**, Ministry of Supply, 1942.

BROCKMANN, J. L.; McDOWELL, A. V.; LEEDS, W. G. Fatal poisoning with sodium fluoroacetate and fluorocitrate toxicity in rats and dogs. **Journal of the American Medical Association**, v. 159, p. 1529-1532, 1955.

BUCH, W. B.; OSWEILER, G. D.; VANGELDER. Fluoroacetate and fluorocitrate. **Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology**, p. 233-237, 1976.

BUFFA P.; PASQUALI-RONCHETTI, I. Biochemical lesions of respiratory enzymes and configurational changes of mitochondria in vivo. **Cell and Tissue Research**, v. 183, p. 1-23, 1977.

BUFFA, P.; PETERS, R. A. Formation of citrate *in vivo* induced by fluoroacetate poisoning. **Nature**, v. 163, p. 914, 1949.

BUFFA, P.; PETERS, R. A. The *in vivo* formation of citrate induced by fluoroacetate poisoning in animals. **Fluoride**, v. 6, p. 224-47, 1950.

BURANDE, M.; GOYAL, R. K.; VERMA, S. C. Studies on the mechanism of cardiotoxic effects of sodium fluoroacetate & dobutamine. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 21, p. 150-152, 1983.

BURGER, I. H.; FLECKNELL, P. A. Poisoning. In: CHANDLER, E. A.; GASKELL, C. J.; GASKELL, R. M. **Feline Medicine and Therapeutics**. 2. ed. New York: Blackwell, 1994, p. 656-677.

BURKE, D. G.; LEW, D. K. T.; COMINOS, X. Determination of fluoroacetate in biological matrixes as the dodecyl ester. **The Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 72, p. 503-507, 1989.

BURNS, R. J.; CONNOLLY, G. E.; OKUNO, I. Secondary toxicity of coyotes killed by 1080 single-dose baits. In: VERTEBRATE PEST CONFERENCE, 20., 1986, Davis. **Proceedings...** California: University, 1986. p. 324-329.

BURNS, R. J.; TIETJIN, H. P.; CONNOLLY, G. E. Secondary hazard of livestock protection collars to skunks and eagles. **Journal of Wildlife Management**, v. 55, p. 701-704, 1991.

CALVER, M. C.; KING, D. R. Controlling vertebrate pests with fluoroacetate: lessons in wildlife management, bio-ethics, and co-evolution. **Journal of Biological Education**, n. 20, v. 4, p. 257-262, 1986.

CAMARGO, W. A. Uma nova “erva-de-rato” tóxica para bovinos *Palicourea barbiflora* (?); comparação com a *Palicourea marcgravii* var. *pubescens* e com *Psychotria officinalis*, Rubiaceae. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 29, p. 1-11, 1962.

CAMPBELL, A.; CHAPMAN, M. **Handbook of Poisoning in Dogs and Cats**. London: Blackwell, 2000. 272 p.

CANELLA, C. F. V. et al. Experimentos com *Palicourea longepedunculata* Gardn. Revelando a sua inocuidade para bovinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 4, p. 205-208, 1969.

CASCON, C. S; MORS, W. B. Substâncias isoladas da *Palicourea marcgravii* St. Hil: Uma nova síntese da N-metil-tiramina. **Anais da Associação Brasileira de Química**, v. 21, p. 53-60, 1962.

CASPER, H. H.; McMAHON, T. L.; PAULSON, G. D. Capillary gas chromatographic-mass spectrometric determination of fluoroacetate residues in animal tissues. **Journal of Association Official Analytical Chemistry**, v. 68, n. 4, p. 722-725, 1985.

CASPER, H. H. et al. Fluoroacetate residues in ground squirrel and coyote tissues due to primary or secondary 1080 poisoning. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 69, p. 441-442, 1986.

CATER, D. B.; PETERS, R. A. The occurrence of renal changes, resembling nephrosis, in rats poisoned with fluorocitrate. **British Journal of Experimental Pathology**, v. 42, p. 78-289, 1961.

CHENOWETH, M. B. et al. Factors influencing fluoroacetate poisoning- practical treatment with glycerol monoacetate. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 102, p. 31-49, 1951.

CHENOWETH, M. B. Monofluoroacetic acid and related compounds. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 97, n. 4, p. 383-424, 1949.

CHENOWETH, M. B.; GILMAN, A. Studies on the pharmacology of fluoroacetate. I. Species responses to fluoroacetate. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 87, 90-103, 1946.

CHENOWETH, M. B.; GILLMAN, A. Studies on the pharmacology of fluoroacetate II. Action on the heart. **The Bulletin of the U. S. Army Medical Department**, v. 7, p. 687-699, 1947.

CHENOWETH, M. B.; ST JOHN, E. F. Studies on the pharmacology of fluoroacetate. III. Effects on the central nervous system of dogs and rabbits. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 90, p. 76-82, 1947.

CHENOWETH, M. B.; KENDAL, A. Tolerance to fluoroacetate and fluorobutyrate in rats. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 104, p. 248, 1952.

CHEW, M. Y. Cyanide content of tapioca (*Manihot utilissima*) leaf. **Malaysian Journal of Agricultural**, v. 48, n. 4, p. 354-356, 1972.

CHI, C. H.; LIN, T. K.; CHEN, K. W. Hemodynamic abnormalities in sodium monofluoroacetate intoxication. **Human and Experimental Toxicology**, v. 18, p. 351-353, 1999.

CHI, C. H. et al. Clinical presentation and prognostic factors in sodium monofluoroacetate intoxication. **Clinical Toxicology**, v. 34, n. 6, p. 707-712, 1996.

CHUNG, H. M. Acute renal failure caused by acute monofluoroacetate poisoning. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 26, p. 29-32, 1984. Supplement 2.

CHURCHILL, R. **1080 Sodium fluoroacetate toxicity in dogs: control and therapy series**. 1996. 846 p. Thesis (Doctorate in Veterinary Science) - University of Sydney, 1996.

CHURCHILL, R.; CORKHILL, C.; RICHARD, M. **1.080 poisoning in dogs**. 2007. Disponível em: <<http://www.theveterinarian.com.au/features/article685.asp>>. Acesso em: 07 jul. 2007.

COELHO, E. G. et al. Calcium oxalate crystals and methyl salicylate as toxic principles of the fresh leaves from *Palicourea longiflora*, an endemic species in the Amazonas state. **Toxicon**, v. 49, p. 407-409, 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.

COLLICCHIO-ZUANAZE, R. C. **Perfil hematológico, bioquímico, histopatológico e toxicológico de gatos induzidos experimentalmente com monofluoroacetato de sódio**. 2006. 167 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, 2006.

COLLICCHIO-ZUANAZE, R. C. et al. Calcium gluconate and sodium succinate for therapy of sodium fluoroacetate experimental intoxication in cats: clinical and electrocardiographic evaluation. **Human and Experimental Toxicology**, v. 25, n. 4, p. 175-182, 2006.

CONNOLLY, G. **Technical bulletin for the sodium fluoroacetate (compound 1080) livestock protection collar**. U.S. Department of Agriculture, Animal Damage Control, Denver Wildlife Research Center, Denver, 1989. 25 p.

CONNOLLY, G. **Technical bulletin for the sodium fluoroacetate (compound 1080) livestock protection collar**. U.S. Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, Denver Wildlife Research Center, Denver, 1993. 37 p.

CONSORTE, L. B., PEIXOTO, P. V.; TOKARNIA, C. H. Intoxicação experimental por *Pseudocalymma elegans* (bignoniaceae) em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 14, n. 4, p. 123-133, 1994.

COOK, C. J. et al. Developments of antidotes for sodium monofluoroacetate (1080). **Biomarkers**, v. 6, p. 72-76, 2001.

CORRÊA, P. M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: IBDF, 1969. 765 p. v. 4.

CORSI, A.; GRANATA, A. L. Differential toxicity of fluoroacetate to heart, kidney and brain mitochondria than living rat. **Biochemical pharmacology**, v. 16, p. 1083-1089, 1967.

CORTES, P. R. Una etiologia de la borrachera del llano. **Revista Ganagrínco**, v. 4-6, n. 18-24, 1969/71. Paginação irregular.

COSTA, M. V. et al. Lesões em bovinos intoxicados por *Palicourea marcgravii* St. Hil. **Arquivos Brasileiros Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 36, n. 5, p. 571-580, 1984.

COWAN, P. E. The ecological effects of possum on the New Zealand environment. In: SYMPOSIUM ON TUBERCULOSIS, 1991. Palmerston North. **Proceedings...** Massey University: Veterinary Continuing Education, p. 132, 1991.

CRISTOFORI, P. et al. Renal proximal tubule segment-specific nephrotoxicity: An overview on biomarkers and histopathology. **Toxicologic Pathology**, v. 35, n. 2, p. 270-275, 2007.

CUNHA, L. C. **Avaliação dos efeitos tóxicos de Mascagnia rigida em ratos. Estudo anatomopatológico. Comparação entre metodologias cromatográficas para detecção do fluoroacetato de sódio**. 2008. 100 p. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental e Comparada) - Universidade de São Paulo, 2008.

DE PAULA, L. F. **Intoxicação por fluoroacetato em cães: avaliação clínica e eletroencefalográfica do tratamento com monoacetato de glicerol e gluconato de cálcio**. Botucatu, 2000. 106 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, 2000.

DEMARCHI, A. C. C. et al. Determination of the sodium monofluoroacetate in serum by gas chromatography. **Chromatographia**, v. 54, p. 402-404, 2001.

DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C. H. Intoxicação de bovinos pela “erva-de-rato” (*Palicourea marcgravii* St. Hil.) no vale do Itapicuru, Maranhão. **Arquivos do Instituto de Biologia Animal**, v. 2, p. 83-91, 1959.

DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C. H.; CANELLA, C. F. C. Experimental poisoning of cattle by the pericarp of the fruit of *Ricinus communis*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 1, n. 3, p. 95-97, 1981



- DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C. H. Intoxicação experimental por *Palicourea grandiflora* (Rubiaceae) em coelhos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 2, n. 3, p. 121-124, 1982.
- DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C. H.; SILVA, M. F. Intoxicação por *Arrabidaea bilabiata* (Bignoniaceae) em bovinos na Região Amazônica do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 3, n. 1, p. 17-24, 1983.
- DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C. H. Intoxicação experimental por *Arrabidaea japurensis* (Bignoniaceae) em coelhos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 3, n. 3, p. 95-97, 1983.
- DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V.; TOKARNIA, C. H. Intoxicação experimental por *Arrabidaea bilabiata* (Bignoniaceae) em coelhos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 4, n. 3, p. 89-96, 1984.
- DÖBEREINER, J. et al. Intoxicação experimental por *Mascagnia pubiflora* (Malpighiaceae) em coelhos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 6, n. 2, p. 51-57, 1986.
- DODIC, M. et al. Impaired cardiac functional reserve and left ventricular hypertrophy in adult sheep after prenatal dexamethasone exposure. **Circulation Research**, v. 89, p. 623-629, 2001.
- DUNN, D.; BERMAN, D. A. Oxidation of glucose-1-14C, glucose-6-14C and acetate-1-14C by rat ventricular strips during the inotropic action of fluoroacetate, **Life Sciences**, v. 5, p. 1881, 1968.
- EASON, C. T. et al. Persistence of sodium monofluoroacetate in livestock animals and risk to humans. **Human and Experimental Toxicology**, v. 13, p. 119-122, 1994.
- EASON, C. T.; GOONERATNE, R.; RAMMELL, C. G. A review of toxicokinetics and toxicodynamics of sodium monofluoroacetate in animals. In: SCIENCE WOKSHOP ON 1080. 28., 1994. New Zealand. **Proceedings...** New Zealand: The Royal Society of New Zealand Miscellaneous Series, 1994, p. 82-89.
- EASON, C. T. Sodium monofluoroacetate toxicology in relation to its use in New Zealand. Australasian **Journal of Ecotoxicology**, v. 3, p. 57-64, 1997.
- EASON, C. T. et al. 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.
- EASTLAND, W. G.; BEASOM, S. L. Potential secondary hazards of compound 1080 to three mammalian scavengers. **Wildlife Society Bulletin**, v. 14, p. 232-233, 1986a.

EASTLAND, W. G.; BEASOM, S. L. Effects of ambient temperature on the 1080-LD<sub>50</sub> of racoons. **Wildlife Society Bulletin**, v. 14, p. 234-235, 1986b.

EASTLAND, W. G.; BEASOM, S. L. Acute toxicity of sodium monofluoroacetate to the striped skunk. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 38, p. 934-936, 1987.

ECKSCHMIDT, M. et al. Is monofluoroacetic acid the active neurotoxic principle in *Palicourea marcgravii*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 22, n. 8, p. 975-977, 1989.

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

EGEKEZE, J. O.; OEHME, F. W. Inorganic and organic fluoride concentrations in tissues after the oral administration of sodium monofluoroacetate (Compound 1080) to rats. **Toxicology**, v. 15, p. 43-53, 1979b.

EGYED M.; SHUPE J. Experimental acute fluoroacetamide poisoning in sheep and dogs. I. Symptomatology and pathology. **Fluoride**, v. 4, p. 129-136, 1971.

EGYED, M. N.; SCHULTZ, R. A. The efficacy of acetamide for the treatment of experimental *Dichapetalum cymosum* (Gifblaar) poisoning in sheep. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 54, p. 231-234, 1986.

EGYED, M. N. Mass poisoning in dogs associated with feeding meat contaminated with organofluoride (sodium fluoroacetate or fluoroacetamide). **Refu Veterinary**, v. 35, p. 9-11, 1978.

EGYED, M. N. et al. The differential diagnosis of sodium fluoroacetate and strychnine poisoning in dogs. **Refu Veterinary**, v. 34, p. 125-30, 1977.

EISLER, R. **Sodium monofluoroacetate (1080) hazards to fish, wildlife, and invertebrates: A synoptic review**. Patuxent Environmental Science Center, U.S. National Biological Service Biological Report, 1995. 52 p.

EPA, U. S. Environmental Protection Agency. **Effects of exposure to heavy metals on selected fresh water fish: toxicity of copper, cadmium, chromium, and lead to eggs and fry of seven fish species**. Environmental Research Laboratory, Office of Research and Development, Duluth, 1976. 105 p.

EPA, U. S. Environmental Protection Agency. **Compound 1080 special review**. Office of Pesticides and Toxic Substances, Washington, 1985. 75 p.

EPA, U. S. Environmental Protection Agency. **Sodium fluoroacetate**. Office of Pesticides and Toxic Substances, Washington, 1995. 6 p.

EVERIST, S. L. **Poisonous Plants of Australia**. Sidney: Angus and Robertson Publishers, 1974. 684 p.

FANSHIER, D. W.; GOTTWALD, L. K.; KUN, E. Studies on specific enzyme inhibitors. VI. Characterization and mechanism of action the enzyme inhibitory isomer of monofluorocitrate. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 239, p. 425-434, 1964.

FELDBERG, W.; KILBY, B. A.; KILBY, M. **Report to Director of Research**, Ministry of Supply. 1942.

FELDWICK M. G. et al. The biochemical toxicology of 1,3-difluoro-2-propanol, the major ingredient of the pesticide Gliftor: The potential of 4-methylpyrazole as an antidote. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 12, p. 41-52, 1997.

FILLASTRE, J. P.; RAGUENEZ-VIOTTE, G. Cisplatin nephrotoxicity. **Toxicological Letters**, v. 46, n. 1/3, p. 163-175, 1989.

FOLB, P. I. Cytostatic and immunosuppressive drugs. In: MEYLER, L., DUKES, M. N. G. **Meyler's side effects of drugs**. Amsterdam: Elsevier, 1988. p. 928-960.

FONNUM, F.; JOHNSEN, A.; HASSEL, B. Use of fluorocitrate and fluoroacetate in the study of brain metabolism. **Glia**, v. 21, n. 1, p. 106-113, 1997.

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.

FRIEDMAN, M.; KAPLAN, A. Studies concerning the site of renin formation in the kidney. IV. The renin content of the mammalian kidney following specific necrosis of proximal convoluted tubular epithelium. **Journal of Experimental Medicine**, v. 77, p. 65-73, 1943.

FUYU, G.; HUIFANG, W.; YI, L. Sensitive and selective method for the determination of sodium monofluoroacetate by capillary zone electrophoresis. **Journal of Chromatography**, v. 719, p. 421-426, 1996.

GAGNIN, M. A. H.; MARAVALHAS, N. Ocorrência de alcalóides no gênero *Palicourea*. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 20., 1969. Goiânia. **Anais...** Goiânia: [s. n.], p. 91-105, 1969.

GAJDUSEK, D. C.; LUTHER, G. Fluoroacetate poisoning: a review and report of a case. **American Journal of Diseases of Children**, v. 79, p. 310-320, 1950.

GAL, E. M.; PETERS, R. A.; WAKELIN, R. A. The effects of synthetic fluoro compounds on the metabolism of acetate and citrate. **Biochemistry Journal**, v. 58, n. 4, p. 41-43, 1954.

GAL, E. M.; PETERS, R. A.; WAKELIN, R. A. Some effects of synthetic fluoro-compounds on the metabolism of acetate and citrate. **Biochemistry Journal**, v. 64, n. 1, p. 161-168, 1956.

GAL, E. M.; DREWES, P. A.; TAYLOR, N. F. Metabolism of fluoroacetic acid-2-C14 in the intact rat. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 93, p. 1-14, 1961.

- GAMMIE, J. Sodium fluoroacetate poisoning in a cat. **Canadian Veterinary Journal**, v. 21, p. 64, 1980.
- GARCIA-NAVARRO, C. E. K. **Manual de Urinálise Veterinária**. São Paulo: Varela, 1996. 95p.
- GARDNER, C. A.; BENNETTS, H. W. **The toxic plants of Western Australia**. Perth: Western Australia Newspaper, 1956. 254 p.
- GAVA, A. et al. Intoxicação experimental por *Prunus sellowii* (Rosaceae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 12, n. 1/2, p. 1-4, 1992.
- GAVA, A. et al. Intoxicação cianogênica em bovinos alimentados com *Tifton* (*Cynodon* sp.). In: CICLO DE ATUALIZAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA, 8., 1998. Lages. **Resumo...** Lages: [s. n.], p. 119, 1998a.
- GAVA, A. et al. Mortes súbitas em bovinos causadas pela ingestão de *Mascagnia* sp. (Malpighiaceae), no Estado de Santa Catarina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 18, n. 1, p. 16-20, 1998b.
- GODOY, H. M.; CARMEN, V. M. Myocardial adenine nucleotides, hexose phosphates and inorganic phosphate, and the regulation of phosphofructokinase activity during fluoroacetate poisoning in the rat. **Biochemistry Pharmacology**, v. 23, p. 3179-3189, 1974.
- GOH, C. S. S. et al. Sodium monofluoroacetate (Compound 1080) poisoning in dogs. **The Australian Veterinary Journal**, v. 83, n. 8, p. 474-479, 2005.
- GONCHAROV, N. V.; JENKINS, R. O.; RADILOV, A. S. Toxicology of fluoroacetate: a review, with possible directions for therapy research. **Journal of Applied Toxicology**, v. 26, n. 2, p. 148-161, 2005.
- GONZÁLEZ, B. et al. Chemical composition and biological activity of extracts from *Arrabidaea bilabiata*. **Pharmaceutical Biology**, v. 38, n. 4, p. 287-290, 2000.
- GOONERATNE, R. et al. Plasma and tissue 1080 in rabbits after lethal and sub-lethal doses. **The Royal Society of New Zealand**, v. 28, p. 67-73, 1994.
- GOONERATNE, S. R. et al. Persistence of sodium monofluoroacetate in rabbits and risk to non-target species. **Human and Experimental Toxicology**, v. 14, p. 212-6, 1995.
- GORGI, A. A. White muscle disease in foals. In: CORNELL UNIVERSITY SEMINAR, 2004. New York. **Proceeding...** New York: Cornell University, p. 34-37, 2004.
- GÓRNIK, S. L. et al. Chromatographic Isolation of caffeine from *Palicourea marcgravii*. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 28, n. 6, p. 542, 1986.

GÓRNIAK, S. L. *Palicourea marcgravii*: estudos em animais de laboratório. 1986. 160 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental e Comparada) - Universidade de São Paulo, 1986.

GÓRNIAK, S. L. **Intoxicação por *Palicourea marcgravii*: Uma abordagem experimental**. 1988. 99 f. Tese (Doutorado em Patologia Experimental e Comparada) - Universidade de São Paulo, 1988.

GÓRNIAK, S. L.; PALERMO-NETO, J.; SPINOSA, H. S. Effect of CNS depressant drugs on acute intoxication from *Palicourea marcgravii* St Hill in rats. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 35, p. 19-21, 1993.

GÓRNIAK, S. L.; PALERMO-NETO, J.; SPINOSA, H. S. Effects of acetamide on experimentally-induced *Palicourea marcgravii* (St. Hil) poisoning in rats. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 36, n. 2, p. 101-102, 1994.

GREEN, D. D. **Service policy on the use of compound 1080 (sodium fluoroacetate)**. U.S. Fish and Wildlife Service, Division of Predator and Rodent Control, 1946, 6 p.

GREGG, K. et al. Detoxification of plant toxin fluoroacetate by a genetically modified rumen bacterium. **Biotechnology**, v. 12, p. 1361-1365, 1994.

GREGG, K. et al. 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.

GROLLMAN, A. P.; HARRISON, H. C.; HARRISON, H. E. The renal excretion of citrate. **Journal of Clinical Investigation**, v. 40, p. 1290-1296, 1961.

GUIMARÃES, C. C. Herva de rato. **Vida Médica**, v. 2, p. 324-333, 1934.

HABERMEHL, G. Comunicação pessoal, Apud GÓRNIAK, S. L. *Palicourea marcgravii*: estudos em animais de laboratório. 1986. 160 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental e Comparada) - Universidade de São Paulo, 1986.

HABERMEHL, G. Comunicação pessoal, Apud GÓRNIAK, S. L. **Intoxicação por *Palicourea marcgravii*: Uma abordagem experimental**. 1988. 99 f. Tese (Doutorado em Patologia Experimental e Comparada) - Universidade de São Paulo, 1988.

HALL, R. J. The distribution of organic fluorine in the some toxic tropical plants. **New Phytologist**, v. 71, p. 855-871, 1972.

HARAGUCHI, M. Plantas Tóxicas de Interesse na Pecuária. **Biológico**, São Paulo, v. 65, n. 1/2, p. 37-39, 2003.

HARRIS, W. F. Clinical toxicities of dogs. **Veterinary Clinics of North America**, v. 5, p. 605-622, 1975.

HATCH, C. R. Venenos que provocam estimulação ou depressão nervosa. In: JONES, L. M.; BOOTH, N. H.; McDONALD, L. E. **Farmacologia e terapêutica em Veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. p. 852-892.

HAYES, F. D.; SHORT, R. D.; GIBSON, J. E. Differential toxicity of monochloroacetate, monofluoroacetate and monoiodoacetate in rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 26, p. 93-102, 1973.

HEGDAL, P. L. et al. Hazards to wildlife associated with 1080 baiting for California ground squirrels. **Wildlife Society Bulletin**, v. 14, p. 11-21, 1986.

HELAYEL, M. A. **Morte súbita em bovinos causada pela ingestão de *Pseudocalymma elegans* (Bignoniaceae) no município de Rio Bonito, RJ**. 2008. 91 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2008.

HENRICI, M. Preliminary report upon the occurrence of hydrocyanic acid in the grasses of Bechuanaland: part I. 11th and 12th Rep. **Director Veterinary Education Research**, Pretoria, p. 495-498, 1926.

HEYWARD, R. P.; NORBURY, G. L. Secondary poisoning of ferrets and cats after 1080 rabbit poisoning. **Wildlife Research**, v. 25, p. 75-80, 1998.

HOEHNE, F. C. Plantas tóxicas e suspeitas da Flora Brasílica: *Palicourea marcgravii* St. Hil. (*Psychotria marcgravii* Spreng.) herba de rato verdadeira. **Revista da Indústria Animal**, v. 2, n. 8, p. 873-881, 1932.

HOEHNE, F. C. **Plantas e Substâncias Vegetais Tóxicas e Medicinais**. São Paulo: Graphicars, 1939. 356p.

HOOGENBOOM, J. J. L.; RAMMELL, C. G. Determination of sodium monofluoroacetate (compound 1080) in tissues and baits as its benzyl ester by reaction-capillary gas chromatography. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 11, p. 140-143, 1987.

HORNFELDT, C. S.; LARSON, A. A. Seizures induced by fluoroacetic acid and fluorocitric acid may involve chelation of divalent cations in the spinal cord. **European Journal of Pharmacology**, v. 179, p. 307-313, 1990.

HORNSHAW, T. C. et al. Toxicity of sodium monofluoroacetate (compound 1080) to mink and European ferrets. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 5, p. 213-223, 1986.

HOWARD, W. E.; MARSH, R. E.; PALMATEER, S. D. Selective breeding of rats for resistance to sodium monofluoroacetate. **Journal of Applied Ecology**, v. 10, p. 731, 1973.

HUANG, T. Y.; PANG, X. Q.; CH'ANG, H. L. Prophylactic effect of reserpine in cardiac failure caused by monofluoroacetic acid derivatives. **Acta pharmacologica et toxicologica**, v. 47, p.78-80, 1980.

HUDSON, R. H.; TUCKER, R. K.; HAEGELE, M. A. **Handbook of toxicity of pesticides to wildlife**. U.S. Fish and Wildlife Service Resource Publication, 1984. 90 p.

HUGGHINS, E. J.; CASPER, H. H.; WARD, C. D. Tissue fluoroacetate residues in prairie dogs dosed with low-level sodium monofluoroacetate. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 71, p. 579-581, 1988.

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

HUTCHENS, J. O.; WAGNER, H.; PODOLSKY, B. The effect of ethanol and various metabolites on fluoroacetate poisoning. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic**, v. 95, p. 62-70, 1949.

JABOUR, F. F. et al. Variação da toxidez de *Arrabidaea bilabiata* (Bignoniaceae) em coelhos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 171-176, 2006.

JARRET, I. G.; PACKHAM, A. Response of sheep to sublethal doses of fluoroacetate. **Nature**, v. 177, p. 580-581, 1956.

JENSEN, R.; TOBISKA, J. W.; WARD, J. C. Sodium fluoroacetate (Compound 1080) poisoning in sheep. **Journal of Veterinary Research**, v. 9, p. 370-372, 1948.

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia Veterinária**. 6. ed. Barueri: Manole, 2000, 1415p.

JONES, T. C.; HUNT, R. D. **Veterinary Pathology**. 5 ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1983, p. 1443-1502.

JOON, C. Y. et al. Pathological studies on the experimentally induced rodenticide poisoning in ruminant. **Korean Medical Database**, v. 22, p. 221-232, 1982.

JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. **Pathology of Domestic Animals**, 5. ed, Toronto: Saunders elsevier, 2007. 737 p. v. 3.

KALMBACH, E. R. "Ten-eighty," a war-produced rodenticide. **Science**, v. 102, n. 2644, p. 232-233, 1945.

KAMAU, J. A. et al. A study of the toxicity of *Dichapetalum ruhlandii* (LUDI). **Indian Veterinary Journal**, v. 55, p. 626-630, 1978.

KEMMERLING, W. Toxicity of *Palicourea marcgravii*: Combined effects of fluoroacetate, N-methyltyramine and 2-methyltetrahydro-beta-carboline. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 51, n. 1/2, p. 59-64, 1996.

KHATTAB, F. K. I. Effects of sodium selenite on the ultrastructure of the kidney cortex in normal rats. **Journal of Applied Sciences Research**, v. 3, n. 9, p. 803-810, 2007.

KIMBALL, B. A.; MISHALANIE, E. A. Gas chromatographic determination of sodium monofluoroacetate as the free acid in an aqueous solvent. **Journal of Chromatography**, v. 634, p. 289-296, 1993.

KIRK, R. W. **Current Veterinary Therapy**. 7. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1980. 110 p.

KITTLESON, M. D.; KIENLE, R. D. **Small animal cardiovascular medicine**. St. Louis: Mosby, 1998. 603p.

KOSTYNIAK, P. J.; BOSMANN, H. B.; SMITH, F. A. Defluorination of fluoroacetate *in vitro* by rat liver subcellular fractions. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 44, n. 1, p. 89-97, 1978.

KOSTYNIAK, P. J. Defluorination: a possible mechanism of detoxication in rats exposed to fluoroacetat. **Toxicology Letters**, v. 3, p. 225-228, 1979.

KRAMER, H. L. Liquid chromatographic determination of sodium fluoroacetate (compound 1080) in meat baits and formulations. **Journal of Association Official Analytical Chemistry**, v. 67, n. 6, p. 1058-61, 1984.

KREBS, H. C.; KEMMERLING, W.; HABERMEHL, G. Qualitative and quantitative determination of fluoroacetic acid in *Arrabidaea bilabiata* and *Palicourea marcgravii* by F-19-NMR Spectroscopy. **Toxicon**, v. 32, n. 6, p. 909-913, 1994.

LAGO, E. P. et al. Perfis eletrocardiográfico e ecodopplercardiográfico de ovinos após ingestão da suspensão aquosa de *Mascagnia rigida* Griseb. (Malpighiaceae). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 4, p. 853-862, 2009.

LEMAIRE, L. M. Cardiotoxicity of comercial 5-fluorouracil vials stems from the hydrolysis of this drug. **Cancer Treatment Reports**, v. 71, p. 733-736, 1992.

LIFSON, N.; SVANSON, S. A. Effects of fluoroacetate on the conversion of isotopic acetate to carbon dioxide by mouse. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 109, n 1, p. 1-7, 1953.

LIM J. K. J.; JENSEN G. K.; KING JR O. H. Some toxicological aspects of stannous fluoride after ingestion as a clear, precipitatefree solution compared to sodium fluoride. **Journal of Dental Research**, v. 54, n. 3, p. 615-625, 1975.

LLOYD, W. E. Sodium fluoroacetate (compound 1080) poisoning. In: KIRK, R. W. **Current Veterinary Therapy**. 8. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1983. p. 112-113.



LOTSPEICH, W. D.; PETERS, R. A.; WILLSON, T. H. The inhibition of aconitase by "Inhibitor Fractions" isolated from tissues poisoned with fluoroacetate. **The Biochemical Journal**, v. 51, p. 20, 1952.

MARAI, 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.

MARKS, C. A. et al. Assuring that 1080 toxicosis in the red fox (*Vulpes vulpes*) is humane: fluoroacetic acid (1080) and drug combinations. **Wildlife Research**, v. 27, p. 483-494, 2000.

MARRAZZI, M. A.; HOLLIDAY, J. F. Comparison of insulin hypoglycemia-induced and fluoroacetate-induced convulsions in gold thioglucose lesioned mice. **Biochemical Pharmacology**, v. 30, n. 23, p. 3231-3237, 1981.

MARSH, R. E.; SCHMIDT, R. H.; HOWARD, W. E. Secondary hazards to coyotes of ground squirrels poisoned with 1080 or strychnine. **Wildlife Society Bulletin**, v. 15, p. 380-385, 1987.

MARTIUS, C. F. P. **Flora Brasiliensis**. 1915. Disponível em: <<http://florabrasiliensis.cria.org.br/fviewer>>. Acesso em: 03 Mar. 2009.

MARTIUS, C. F. P. **Systema Materiae Medicae Vegetabilis Brasiliensis**. Lipsiae: Apud FLEISCHER, F.; Vindobonae: Apud BECK, F. in comm. 1843. 156p.

McEWAN, T. Isolation and identification of the principle of *Gastrolobium grandiflorum*. **Queensland Journal of Agricultural Sciences**, v. 21, n. 2, p. 1-14, 1964.

McEWAN, T. Organo-fluorine compounds in plants. In: KEELER, R. F.; VAN KAMPEN, K. R.; JAMES, L. F. **Effects of poisonous plants on livestock**. New York: Academic Press. 1978. p. 147-158.

McGARY, E. D.; MELOAN, C. E. A rapid qualitative method for the detection of monofluoroacetic acid (1080) in the presence of sodium fluoride in liquid baits. **Analytical Letter**, v. 15, p. 1051-1056, 1982.

McGIRR, J. L.; PAPWORTH, D. S. The toxicity of rodenticides: I Sodium fluoroacetate, Antu and Warfarin. **The Veterinary Record**, v. 67, p. 124-131, 1955.

McILROY, J. C. The sensitivity of Australian animals to 1080 poison. III. Marsupial and eutherian herbivores. **Australian Wildlife Research**, v. 9, p. 487-503 1982a.

McILROY J. C. The sensitivity of Australian animals to 1080 poison IV. Native and introduced rodents. **Australian Wildlife Research**, v. 9, p. 505-517, 1982b.

McILROY J. C. The sensitivity of Australian carnivorous mammals to 1080 poison. In: ARCHER, M. **Carnivorous Marsupials**. Australia: Royal Zoological Society of NSW, 1982c. p. 267-271.

McILROY J. C. The sensitivity of Australian animals to 1080 poison VII. Native and introduced birds. **Australian Wildlife Research**, v. 11, p. 373-385, 1984.

McILROY, J. C. The sensitivity of Australian animals to 1080 poison. I. Intraspecific variation and factors affecting acute toxicity. II. Marsupial and eutherian carnivores. **Australian Wildlife Research**, v. 8, p. 369-399, 1981.

McILROY, J. C. The sensitivity of Australian animals to 1080 poison. V. The sensitivity of feral pigs, *Sus scrofa*, to 1080 and its implications for poisoning campaigns. **Australian Wildlife Research**, v. 10, p. 139-148. 1983a.

McILROY, J. C. The sensitivity of Australian animals to 1080 poison. VI. Bandicoots. **Australian Wildlife Research**, v. 10, p. 507-512, 1983b.

McILROY, J. C. The sensitivity of Australian animals to 1080 poison. VIII. Amphibians and reptiles. **Australian Wildlife Research**, v. 12, p. 113-118, 1985.

McILROY, J. C.; KING, D. R.; OLIVER, A. J. The sensitivity of Australian animals to 1080 poison. VIII. Amphibians and reptiles. **Australian Wildlife Research**, v. 12, p. 113-118, 1985.

McILROY, J. C. The sensitivity of Australian animals to 1080 poison IX. Comparisons between the major groups of animals, and the potential danger non-target species face from 1080-poisoning campaigns. **Australian Wildlife Research**, v. 13, p. 39-48, 1986.

McILROY, J. C. The effect on Australian animals of 1080-poisoning campaigns. In: VERTEBRATE PEST CONFERENCE, 15., 1992, Lincon. **Proceedings...** Lincon: University of Nebraska, 1992, p. 355-359.

McILROY, J. C. Rationale for the use of 1080 to control vertebrate pests. In: FISHER, P. M.; MARKS, C. A. **Humaneness of Vertebrate Pest Control**. Tynong North: Ropet Printing, 1996. p. 27-33.

McINTOSH, I. G. et al. The toxicity of sodium monofluoroacetate (1080) to the North Island weka (*Gallirallus australis greyi*). **New Zealand Journal of Science**, v. 9, p. 125-128, 1966.

McTAGGART, D. R. Poisoning due sodium fluoroacetate ("1.080"). **Medical Journal Australian**, v. 2, n. 14, p. 641-642, 1970.

MEDEIROS, R. M. T. et al. Sudden bovine death from *Mascagnia rigida* in Northeastern Brazil. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 44, n. 5, p. 286-288, 2002.

MEHLMAN, M. A. Inhibition of pyruvate carboxylation by fluorocitrate in rat kidney mitochondria. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 243, n. 8, p. 1919-1925, 1968.

MELDRUM, G. K.; BIGNELL, J. T. The use of sodium fluoroacetate (compound 1080) for the control of the rabbit in Australia. **Australian Veterinary Journal**, v. 33, p. 186-196, 1957.

MELLO, E. M. M.; FERNANDES, J. S. **Contribuição ao estudo de plantas tóxicas brasileiras**. Serviço de Informação Agrícola, Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro, 1941. 50 p.

MINNAAR, P. P. et al. A high-performance liquid chromatographic method for the determination of monofluoroacetate. **Journal of Chromatography and Science**, v. 38, p.16-20, 2000.

MISUSTAVÁ, J.; NOVÁK, L.; HOSEK, B. Influence of lowered environmental temperature on the metabolic and lethal effects of sodium fluoroacetate in mice. **Physiologia Bohemoslovaca**, v. 18, n. 3/4, p. 319-324, 1969.

MORAES, R. L. **Comprovação química e biológica da presença de monofluoroacetato nas folhas de *Palicourea marcgravii* St. Hil.** 1993. 83 f. Tese (Doutorado em Toxicologia) - Universidade de São Paulo, 1993.

MORAES-MOREAU, R. L. et al. Chemical and biological demonstration of the presence of monofluoroacetate in the leaves of *Palicourea marcgravii* St. Hil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 28, p. 685-692, 1995.

MORITA, H. et al. A new alkaloid glycoside from the leaves of *Palicourea marcgravii*. **Plantas Mediciniais**, v. 55, n. 3, p. 288-289, 1989.

MOSES, B. L.; ROSS Jr., J. N. M-mode echocardiographic values in sheep. **American Journal of Veterinary Research**, v. 48, p. 1313-1318, 1987.

MOUNT, M. E. Toxicologia. In: ETTINGER, S. J. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1992. p. 482-488.

NELSON, D. L.; COX, M. **Lehninger - Princípios de Bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 1009p.

NIEBERLE, K.; COHRS, P. **Textbook of the Special Pathological Anatomy of Domestic animals**. London: Pergamon Press, 1966. 1027p.

NIETO, O. Z. **Fichas técnicas de plaguicidas a proibir o restringir incluídos en el acuerdo N° 9 de La XVI Reunión del Sector Salud de Centroamérica y República Dominicana (RESSCAD)**, Costa Rica: Organização Mundial da Saúde, 2001. 255p.

NÓBREGA, JR. et al. Intoxicação por *Sorghum halepense* (Poaceae) em bovinos no semi-árido. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 4, p. 201-204, 2006.

NOGUEIRA, V. A. **Intoxicação por Monofluoroacetato de Sódio em Bovinos: aspectos clínicos e patológicos**. 2009. 70 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2009.

NORRIS, W. R.; EASON, C. T.; WICKSTROM, M. L. Sorption of fluoroacetate (Compound 1080) by colestipol, activated charcoal and anion-exchange resins in vitro and gastrointestinal decontamination in rats. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 42, p. 269-275, 2000.

NOVÁK, L.; MISUSTOVÁ, J.; HOSEK, B. Course of respiratory exchange and body temperature in mice after repeated administration of fluoracetate: an indicator of aconitase activity *in vivo*. **Physiologia bohemoslovenica**, v. 21, p. 53-61, 1972.

NWUDE, N.; PARSONS, L. E.; ADAUDI, A. O. Acute toxicity of the leaves and extracts of *Dichapetalum barteri* (Engl.) in mice, rabbits and goats. **Toxicology**, v. 7, p. 23-29, 1977.

O'HAGAN, B. J. Fluoroacetate poisoning in seven domestic dogs. **Australian Veterinary Journal**, v. 82, p.756-8, 2004.

OELRICHS, P. B.; McEWAN, T. Isolation of the toxic principle in *Acacia georginae*. **Nature**, v. 190, n. 4778, p. 808-809. 1961.

OELRICHS, P. B.; McEWAN, T. The toxic principle of *Acacia georginae*. **Queensland Journal of Agricultural Sciences**, v. 19, p. 1-16, 1962.

OLIVEIRA, A. C. et al. Intoxicação por “tingui” (*Mascagnia rigida* Griseb.) em caprinos na Bahia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1978. Salvador, **Anais...** Salvador: [s.n.], 1978.

OLIVEIRA, C. M. C. et al. 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. M. Chromatographic isolation of monofluoroacetic acid from *Palicourea marcgravii* St. Hil. **Experientia**, v. 19, p. 586, 1963.

OLIVEIRA, Z. Sensibilidade dos roedores aos novos rodenticidas. **Revista de higiene e saúde pública**, v. 14, n. 1/2, p. 45-56, 1955.

OLIVER, A. J.; KING, D. R.; MEAD, R. J. The evolution of resistance to fluoroacetate intoxication in mammals. **Search**, v. 8, p. 130, 1977.

OMARA, F.; SISODIA, C. S. Evaluation of potential antidotes for sodium fluoroacetate in mice. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 32, n. 5, p. 427-431, 1990.

ORR, M.; BENTLEY, G. Accidental 1080 poisonings in livestock and companion animals. **Surveillance**, v. 21, p. 27-28, 1994.

ORTIS, M. **Comissão externa destinada a acompanhar as investigações sobre o envenenamento de animais ocorrido na Fundação Zoológico de São Paulo (envenenamento no Zoológico de São Paulo)**. 2005. Disponível em: <<http://www.camara.gov.br/sileg/integras/292702.pdf>>. Acesso em 14 ago. 09.

OSWEILER, G. D. Rodenticides. In: **Toxicology**. Media: Willians & Wilkins, 1996. Cap. 22, p. 289-93.

OSWEILER, G. D. et al. **Clinical and diagnostic veterinary toxicology**. 3. ed., Kendall: Hunt Publishing, 1985, p. 340-344.

OZAWA, H.; TSUKIOKA, T. Determination of sodium monofluoroacetate in soil and biological samples as the dichloroanilide derivative. **The Journal of Chromatography**., v. 473, p. 251-9, 1989.

PACHECO, G.; CARNEIRO V. Estudos experimentais sobre plantas tóxicas. I. Intoxicação dos animais pela “erva-de-rato da mata”. **Revista Sociedade Paulista Medicina Veterinária**, v. 2, n. 2/3, p. 23-46, 1932a.

PACHECO, G.; CARNEIRO V. Estudos sobre plantas tóxicas. Intoxicação dos animais pela “erva-de-rato da mata”. **Revista de Indústria Animal**, Ano II, n. 8, p. 861-872, 1932b.

PALERMO-NETO, J.; MORAES-MOREAU, R. L. Monofluoroacetato de sódio (Composto 1080). **Folha Médica**, v. 110, p. 59-65, 1995.

PALMATEER, S. D. Status of strychnine, compound 1080, and registered alternatives. In: GREAT PLAINS WILDLIFE DAMAGE CONTROL WORKSHOP PROCEEDINGS, 9., 1989. Lincoln. **Proceedings...** Lincoln: University of Nebraska, p. 14-16, 1989.

PALMATEER, S. D. Registration status of vertebrate pesticides with emphasis on 1080 and strychnine. In: VERTEBRATE PEST CONFERENCE, 14., 1990. Davis. **Proceedings...** Davis: University of California, p. 113-115 1990.

PARAGUASSU, A. A. **Intoxicação experimental por *Mascagnia rigida* Grisenbach (Malpighiaceae) em caprinos no Nordeste do Brasil**. 1983. 65 f. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1983.

PARTON, K. Sodium monofluoroacetate (1080). In: **Small Animal Toxicology**, Philadelphia: Saunders, 2006. p. 1055-1062.

PARTON, K.; BRUERE, A. N.; CHAMBERS, J. P. Fluoroacetate-1080. **Veterinary Clinical Toxicology**, v. 208, p. 141-153, 2001.

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

PATTISON, F. L. M.; PETERS, R. A. Monofluoro aliphatic compounds. In: SMITH, F. A. **Handbook of experimental pharmacology**, New York: Springer-Verlag, 1966. p. 387-459.

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

PECKOLT, T. Apud GUIMARÃES, C. C. (1934). Herva de rato. **Vida Médica**, Rio de Janeiro, v. 2, p. 324-333, 1868.

PEIXOTO, P. V. et al. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em coelhos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 7, n. 4, p. 117-129, 1987.

PEREIRA, N. A.; PEREIRA, S. M. N. Contribuição ao estudo de plantas tóxicas e seus antagonistas: erva-de-rato, a Rubiaceae, *Palicourea marcgravii*. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 86, n. 3, p. 109-11, 2005.

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

PETERS, R. A. **Biochemical lesions and lethal synthesis**. New York: Macmillan, 1963. 312 p.

PETERS, R. A.; MORSELLI, P. L. Observations on the use and action of monoacetin in fluoroacetate poisoning. **Biochemical Pharmacology**, v. 14, p. 1891-1893, 1965.

PETERS, R. A.; WAKELIN, R. W.; BUFFA, P. Biochemistry of fluoroacetate poisoning. The isolation and some properties of the fluorotricarboxylic acid inhibitor of citrate metabolism. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences**, v. 140, p. 497-507, 1953.

PETERS, R. A.; SPENCER, H.; BIDSTRUP, M. D. Subacute fluoroacetate poisoning. **Journal of occupational medicine**, v. 23, n. 2, p. 112-113, 1981.

PETERSON, M. E.; TALCOTT, P. A. **Small animal toxicology**. Philadelphia: Elsevier. 2006. 1190 p.

PINTO, L. F. et al. Effects of high diluted solutions of *Palicourea marcgravii* St. Hil. in rats poisoned by aqueous extracts of this plant. **International Journal of High Dilution Research**, v. 7, n. 25, p. 193-198, 2008.

PLUMLEE, K. H. **Clinical Veterinary Toxicology**. Mosby: Missouri. 2004, 477 p.

PONTUAL, K. A. Q. **Caracterização do princípio tóxico de *Palicourea marcgravii* St. Hil. (Rubiaceae) por cromatografia em camada delgada do macerado de vísceras de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) intoxicados experimentalmente**. 2000. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Rural de Pernambuco, Pernambuco, 2000.

PROUDFOOT, A. T.; BRADBERRY, S. M.; VALE, J. A. Sodium fluoroacetate poisoning. **Toxicology Review**, v. 25, n. 4, p. 213-219, 2006.

QUIN, J. I.; CLARK, R. Studies on the action of potassium monofluoroacetate (CH<sub>2</sub>FCOOK) [*Dichapetalum cymosum* (Hook) Engl.] toxin on animals. **Onderstepoort Journal of Veterinary Science and Animal Industry**, v. 22, p. 241-246, 1947.

RAABE, W. A. Ammonia and disinhibition in cat motor cortex by ammonium acetate, monofluoroacetate and insulin-induced hypoglycemia. **Brain Research**, v. 210, p. 311-22, 1981.

RABBANI, S.; AHMADI, H.; FAYAZZADEH, E. et al. Induced myocardial infarction using ligation of the left anterior descending coronary artery major diagonal branch: development of an ovine model. **Journal of Tehran University Heart Center**, v. 1, p. 89-93, 2006.

RADOSTITS, O. M. et al. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737 p.

RAMMELL, C. G.; LIVINGSTONE, P. G. Treatment of 1080 poisoning in dogs with glycerol monoacetate. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 33, p. 149-150, 1985.

REIGART, J. R.; BRUEGGEMAN, J. L.; KEIL, J. E. Sodium fluoroacetate poisoning. **American Journal of Diseases of Children**, v. 129, p. 1224-1226, 1975.

RIET-CORREA, F. Deficiência de cobre. In: RIET-CORREA, F. et al. **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. 3 ed., Santa Maria: Pallotti, 2007, p. 239-248.

RIET-CORREA, F. et al. Efeito da suplementação com cobre e doenças associadas à carência de cobre em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 13. n. 3/4, p. 45-49, 1993.

ROBINSON, R. F. et al. Intoxication with sodium monofluoroacetate (compound 1080). **Veterinary and Human Toxicology**, v. 44, p. 93-95, 2002.

ROBISON, W. H. Acute toxicity of sodium monofluoroacetate to cattle. **Journal of Wildlife Management**, v. 34, p. 647-648, 1970.

RODRIGO, R. et al. Amelioration of myoglobinuric renal damage in rats by chronic exposure to flavonol-rich red wine. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 19, p. 2237-2244, 2004.

ROKITA, S. E.; WALSH, C. Turnover and inactivation of bacterial citrate lyase with 2-fluorocitrate and 2-hydroxycitrate stereoisomers. **Biochemistry**, v. 22, n. 12, p. 2821-2828, 1983.

ROWLEY, I. The effect on rabbits of repeated sublethal doses of sodium fluoroacetate. **Wildlife Research**, v. 8, n. 1, p. 52-55, 1963.

ROY, A. S.; TAITELMAN, U.; BURSZSTEIN, S. Evaluation os the role ionized calcium in sodium fluoroacetate ("1080") poisoning. **Toxicology Applied Pharmacology**, v. 56, p. 216-20, 1980.

SAAD, A. D.; CAMARGO, W. V. A. Intoxicação cianídrica em animais domésticos. **Instituto Biológico**, v. 33, n. 10 p. 211-220, 1967.

SAINT-HILAIRE, A. **Histoire des planes les plus remarquables du Brésil et du Paraguay**. Paris: Tome premier, 1824. p. 204-206.

SAKAI T. F.; MIYAHARA, T. Fluorometric determination of monofluoroacetic acid. **Eisei Kagaku**, v. 27, p. 45-49, 1981.

SANTOS, H. L. **Aspectos clínicos, laboratoriais e anatomo-histopatológicos na intoxicação experimental de bovinos pela *Mascagnia rigida* (Juss.) Gr.** 1975. 36 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária da Universidade Federal Rural de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1975.

SCHITOSKEY, F., Jr. Primary and secondary hazards of three rodenticides to kit fox. **Journal of Wildlife Management**, v. 39, p. 416-418, 1975.

SCHNAUTZ, J. O. Sodium fluoroacetate (Compound 1080) poisoning in cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 114, n. 864, p. 435, 1949.

SCHULTZ, R. A. et al. Observations on the clinical, cardiac and histopathological effects of fluoracetate in sheep. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 49, n. 4, p. 237-45, 1982.

SCHVARTSMAN, S. **Intoxicações agudas.** São Paulo: Sarvier, 1971. p. 194-95.

SCHWARTE, L. H. Toxicidade do monofluoroacetato de sódio para os suínos e aves. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 11, n. 847, p. 301-303, 1947.

SHAPIRA A. R.; TITELMAN, U.; BURSZTEIN, S. Evaluation of the role of ionized calcium in sodium fluoroacetate (1080) poisoning. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 56, p. 216-220, 1980.

SHERLEY, M. Is sodium fluoroacetate (1080) a humane poison? **Animal Welfare**, v. 16, p. 449-459, 2007.

SHERLEY, M. The traditional categories of fluoroacetate poisoning signs and symptoms belie substantial underlying similarities. **Toxicology Letters**, v. 151, p. 399-406, 2004.

SIKULOVÁ, J.; NOVÁK, L. Body temperature as an indicator of the radioprotective effect of sodium fluoroacetate in mice. **International Journal of Radiation Biology**, v. 17, p. 587-90, 1970.

SILVA, E. F.; MELO, M. B.; MUZZI, R. A. L. et al. Índices ecodopplercardiográficos da função ventricular esquerda em cães da raça Boxer e Schnauzer Miniatura. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 71-75, 2008.

SIMONNET, H.; GAUTHIER, C.; PELLET, M. Effect of acidosis, alkalosis and monofluoroacetate administration on citrate and ATP content of rat renal medulla and papilla. **Archives of International Physical Biochemistry**, v. 88, p. 69-74, 1980.



SMITH, F. A.; GARDNER, D. E.; YUILE, C. L. Defluorination of fluoroacetate in the rat. **Life Sciences**, v. 20, p. 1131-1138, 1977.

SOIEFER, A. I.; KOSTYNIK, P. J. The enzymatic defluorination of fluoroacetate in mouse liver cytosol: the separation of defluorination activity from several glutathione S-transferases of mouse liver. **Archives Biochemistry and Biophysics**, v. 225, p. 928-935, 1983.

SOIEFER, A. I.; KOSTYNIK, P. J. Purification of a fluoroacetate-specific defluorinase from mouse liver cytosol. **Journal of Biological Chemistry**, v. 259, p. 10787-10792, 1984.

SPENCER, A. F.; LOWENSTEIN, J. M. Citrate content of liver and kidney of rat in various metabolic states and in fluoroacetate poisoning. **Biochemical Journal**, v. 103, p. 342-348, 1967.

SPORKERT, F. et al. Headspace solid-phase microextraction with 1-prenyldiazomethane on-fibre derivatisation for analysis of fluoroacetic acid in biological samples. **Journal of Chromatography**, v. 772, p. 45-51, 2002.

STECOL, J. A. Detoxication Mechanisms. **Annual Review of Biochemistry**, v. 10, p. 265-284, 1941.

STEYN, D. **The Toxicology of Plants in South Africa**. South Africa: Central News Agency, 1934. 631p.

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

SYKES, T. R. et al. The disposition and metabolism of (<sup>19</sup>F)-fluoroacetate in mice. **Archives of Biochemistry**, v. 3, n. 3, p. 317-323, 1987.

TAITEMAN, U. et al. The effect of monoacetin and calcium chloride on acid base balance and survival in experimental sodium fluoroacetate poisoning. **Archives of Toxicology**, v. 6, p. 222-227, 1983.

TAKAHASHI, K.; NEWBURGER, P. E.; COHEN, H. J. . Glutathione peroxidase protein. Absence in selenium deficiency states and correlation with enzymatic activity. **Journal of Clinical Investigation**, v. 77, p. 1402-1404, 1986.

TAVARES, M. I.; REZENDE, A. M. L.; DÖBEREINER, J. Intoxicação experimental por *Pseudocalymma elegans* em coelhos e cobaias. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 9, p. 91-94, 1974.

TDA, Texas Department of Agriculture. **M-44 sodium cyanide and compound 1080 livestock protection collar certification manual**. Austin: Ann. Rept. 1994, 174 p.

TECLE, B.; CASIDA, J. E. Enzymatic defluorination and metabolism of fluoroacetate, fluoroacetamide, fluoroethanol and (-)-erythro-fluorocitrate in rats and mice examined by fluorine-19 and carbon-13 NMR. **Chemical Research Toxicology**, v. 2, n. 6, p. 429-435, 1989.

TOKARNIA, C. H.; CANELLA, C. F. C.; DÖBEREINER, J. Intoxicação por “tingui” (*Mascagnia rigida* Griseb.) em bovinos no nordeste do Brasil. **Arquivos do Instituto de Biologia Animal**, v. 4, p. 203-215, 1961.

TOKARNIA, C. H. et al. Intoxicação experimental por *Pseudocalymma elegans* (vell.) Kuhlman em bovinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 4, p. 195-204, 1969.

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.; DÖBEREINER, J.; CANELLA, C. F. C. Intoxicação experimental em bovinos pelas folhas de *Ricinus communis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Série Veterinária, v. 10, p. 1-7, 1975.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; SILVA, M. F. Intoxicação por *Palicourea grandiflora* (Rubiaceae) em bovinos no Território de Rondônia. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 1, n. 3, p. 89-94, 1981.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. Intoxicação por *Arrabidaea japurensis* (Bignoniaceae) em bovinos em Ronraima. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 1, n. 1, p. 7-17, 1981.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. Intoxicação experimental por *Palicourea juruana* (Rubiaceae) em bovinos e coelhos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 2, n. 1, p. 17-20, 1982.

TOKARNIA, C. H. et al. Intoxicação por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae), a causa de “mortes súbitas” em bovinos na Zona-da-Mata de Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 3, n. 3, p. 75-79, 1983.

TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V.; DÖBEREINER, J. Intoxicação experimental por *Mascagnia* aff. *rigida* (Malpighiaceae) em coelhos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 5, n. 3, p. 77-91, 1985.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Intoxicação experimental por *Mascagnia* aff. *rigida* (Malpighiaceae) em bovinos no Norte do Espírito Santo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 5, n. 3, p. 77-91, 1985.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. Intoxicação por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em bovinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 6, n. 3, p. 73-78, 1986.

TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V.; DÖBEREINER, J. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 6, n. 4, p. 121-131, 1986.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Intoxicação experimental por *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) em coelhos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 7, n. 1, p. 11-16, 1987.

- TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V.; DÖBEREINER, J. Poisonous plants affecting heart function of cattle in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 10, n. 1/2, p. 1-10, 1990.
- TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V.; DÖBEREINER, J. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 11, n. 3/4, p. 65-70, 1991.
- TOKARNIA, C. H. et al. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em equinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 13, n. 3/4, p. 67-72, 1993.
- TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V.; DÖBEREINER, J. Intoxicação experimental por *Pseudocalymma elegans* (bignoniaceae) em caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 13, n. 1/2, p. 35-39, 1993.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Aspectos clínicos-patológicos complementares das intoxicações por algumas plantas tóxicas brasileiras. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 14, n. 4, p. 111-122, 1994.
- TOKARNIA, C. H. et al. Intoxicação experimental por *Pseudocalymma elegans* (bignoniaceae) em equinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 15, n. 1, p. 35-39, 1995.
- TOKARNIA, C. H. et al. Estudos experimentais com plantas cianogênicas em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 19, n. 2, p. 84-90, 1999.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas Tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. 310 p.
- TOKARNIA, C. H. et al. Aspectos epidemiológicos e clínico-patológicos comparados da intoxicação por *Arrabidaea bilabiata* (Bignoniaceae) em búfalos e bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n. 2, p. 74-79, 2004.
- TOKARNIA, C. H. et al. **Plantas Tóxicas da Amazônia**. 2. ed. Manaus: Editora do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), 2007. 97p.
- TORRES, S.; FERNADES, C. S. A flora de Pernambuco e a patologia animal. **Arquivo Instituto de Pesquisa Agrônomicas**, Recife, v. 3, p. 35-63, 1941.
- TOURTELLOTTE, W. W.; J. M. COON. Treatment of fluoroacetate poisoning in mice and dogs. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 101, p. 82-91, 1950.
- TOURTELOTE, W. W.; CONN, J. M. Synergistic effect of sodium acetate and ethanol in antagonizing sodium fluoroacetate (1080) poisoning in mice. **Federation Proceedings**, v. 8, p. 339, 1949.
- TRABES, J.; RASON, N.; AVRAHAMI, E. Computed tomography demonstration of brain damage due to acute sodium monofluoracetate poisoning. **Clinical Toxicology**, v. 20, p. 85-92, 1983.

- TWIGG, L. E. et al. Tolerance to, and metabolism of, fluoroacetate in the emu. **Australian Wildlife Research**, v. 15, p.239-247, 1988.
- TWIGG, L. E.; MEAD, R. J. Comparative metabolism of, and sensitivity to, fluoroacetate in geographically separated populations of *Tiliqua rugosa* (Gray) (Scincidae). **Australian Journal of Zoology**, v. 37, p.617-626, 1990.
- 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. Occurrence of fluoroacetate in Australian plants and tolerance to 1080 in indigenous Australian animals. **The Royal Society of New Zealand Miscellaneous**, v. 28, p. 97-115, 1994.
- TWIGG, L. E. et al. Fluoroacetate content of some species of the toxic Australian plant genus, *Gastrolobium*, and its environmental persistence. **Natural Toxins**, v. 4, p. 122-127, 1996a.
- TWIGG, L. E. et al. Fluoroacetate found in *Nemcia spathulata*. **Australian Journal of Botany**, v. 44, p. 411-412, 1996b.
- TWIGG, L. E.; WRIGHT, G. R.; POTTS, M. D. Fluoroacetate content of *Gastrolobium brevipes* in Central Australia. **Australian Journal of Botany**, v. 47, p. 877-880, 1999.
- VASCONCELOS, J. S. et al. Intoxicação por *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) em ovinos e caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 10, p. 521-526, 2008.
- VIANNA, J. R. Erva de rato. In: **Plantas tóxicas. Contribuição ao reconhecimento das plantas tóxicas do estado do Rio de Janeiro**. Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado do Rio de Janeiro, 1968. p. 17-18.
- 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.
- VICKERY, B.; VICKERY, M. L. Fluoride metabolism in *Dichapetalum toxicarium*. **Phytochemistry**, v. 11, p. 1905-1909, 1972.
- VICKERY, B.; VICKERY, M. L.; ASHU, J. T. Analysis of plants for fluoroacetic acids. **Phytochemistry**, v. 1, p. 145-147, 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.

WICKSTROM, M. L.; COOK, C. J.; EASON, C. T. Development of antidotes and improved treatment of 1080 toxicosis. **Landcare Research New Zealand**, 1998a.

WICKSTROM, M. L.; COOK, C. J.; EASON, C. T. Amelioration of the effects of sodium monofluoroacetate on cultured rat hippocampal cells. **Neuroscience Letters**, 1998b.

WICKSTROM, M. L.; COOK, C. J.; EASON, C. T. A neural basis for the actions of oral sodium monofluoroacetate. **Toxicology Letters**, 1998c.

WILLIAMSON, J. R. Glycolytic control mechanisms. III Effects of iodoacetamide and fluoroacetate on glucose metabolism in the perfused rat heart. **Journal of Biological Chemistry**, v. 242, n. 19, p. 4476-4485, 1967.

XAVIER, F. G.; KOGIKA, M. M.; SPINOSA, H. S. Common causes of poisoning in dogs and cats in a brazilian veterinary teaching hospital from 1998 to 2000. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 44, n. 1, p. 115-116, 2002.

YAMASHITA, K.; YADA, H.; ARIYOSHI, T. Neurotoxic effects of alpha-fluoro-betaalanine (FBAL) and fluoroacetic acid (FA) on dogs. **Journal of Toxicological Sciences**, v. 29, p. 155-66, 2004.

ZEFERINO, M. A. et al. Validação de um método em cromatografia líquida para análise quantitativa do monofluoroacetato de sódio no soro de gatos intoxicados experimentalmente. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 18, p. 172, 2005.

ZURITA, J. L. et al. Ecotoxicological evaluation of sodium fluoroacetate on aquatic organisms and investigation of the effects on two fish cell lines. **Chemosphere**, v. 67, p. 1-12, 2007.

## 8 ANEXOS

### Anexo A. Resumo dos protocolos dos experimentos

**Ovino 5761 (SAP: 31260)** fêmea, mestiça, com 3 anos de idade e 31kg. Em 04/04/2008 foi realizado exame clínico completo. O animal apresentou FC 112, FR 40, T 39,6° C, MR 1 em um minuto, mucosas normocoradas e Ht 28%. No mesmo dia, às 21:16 foi administrado o MF na dose única de **0,5 mg/kg** de peso (15,5 mg) por via oral. Os primeiros sinais clínicos foram notados em 05/04/2008, às 11:22 horas (14 horas e 6 minutos após a administração); a evolução do quadro clínico foi de 7 horas e 55 minutos. O animal apresentava-se em estação com tremores em diversos grupos musculares, os quais eram mais intensos nos membros posteriores; exibia respiração acelerada (FR 104) e predominantemente abdominal, constante balançar da cabeça com presença de espuma avermelhada saindo pelas narinas e boca; à auscultação verificou-se estertores. Às 11:23 horas, apresentou taquicardia (FC 216) e respiração dispneica (FR 104). O quadro clínico permaneceu inalterado até às 11:36 horas, quando se agravou e verificou-se FC 248, respiração dispneica predominantemente abdominal com acentuada taquipnéia (FR 104) e intensos tremores musculares. À auscultação verificou-se edema pulmonar. Às 11:45 horas, o animal tentou comer, mas sem êxito e apresentou FC 252. Às 11:51 horas, a respiração tornou-se ruidosa (estertorosa) e muito acelerada (FR 152); o animal estava inquieto. Deitou às 11:54 horas com o pescoço estendido e cabeça encostada no chão, após 19 minutos levantou-se e em seguida deitou novamente. Às 12:18 horas, verificaram FC 184, FR 100, T 38,9° C, o animal continuou com os mesmos sinais clínicos até 13:22 horas, quando levantou-se, urinou, defecou e passou a deitar e levantar com frequência (inquietação). Às 14:06 o animal estava mais calmo e apresentava FC 180, FR 80 e T 38,9° C, mas a respiração permaneceu ruidosa e dispneica. Após duas horas o animal manifestava respiração abdominal intensa (FR 96) ainda dispneica e com estertores, FC 212, T 38,8° C, apatia. Às 18:25 comeu capim picado e deitava e levantava com frequência e observou-se FC 120 e FR 100. Às 19:14 levantou cambaleante e com intensa dispnéia (FR 124) e respiração predominantemente abdominal. Um minuto depois entrou em decúbito esternal, esticou os quatro membros e passou ao decúbito lateral esquerdo com o pescoço esticado e encostado no chão. O animal morreu às 19:17 horas.

Achados de necropsia: veia cava caudal e cranial, ázigos e ilíacas dilatadas e repletas ++(+); jugulares ingurgitadas ++(+). Coração com moderada dilatação do lado esquerdo e direito. Presença de líquido espumoso avermelhado da traquéia aos brônquios ++(+). Pulmões pesados, brilhantes, irregularmente avermelhados, com pequenas áreas de atelectasia, acentuada congestão e leve edema subpleural.

**Ovino 5763 (SAP: 31269)**, fêmea, mestiça, com 2 anos de idade e 37kg. Em 17/04/2008 foi realizado exame clínico completo. O animal apresentou FC 84, FR 24, T 39,3°C, MR 1 e ½ em dois minutos, mucosas normocoradas e Ht 32%. No mesmo dia, às 17:37 horas foi administrado o MF na dose única de **0,5 mg/kg** de peso (18,5 mg) por via oral. O animal não manifestou sintomas.

**Ovino 5762 (SAP: 31261)**, fêmea, mestiça, com 6 meses de idade e 19kg. Em 05/04/2008 foi realizado exame clínico completo. O animal apresentou FC 120, FR 24, T 39,7° C, MR 1 em um minuto, mucosas normocoradas e Ht 32%. No mesmo dia, às 03:15 foi administrado o MF na dose única de **1,0 mg/kg** de peso (19 mg) por via oral. Os primeiros sinais clínicos foram notados em 05/04/2008, às 16:35 horas (13 horas e 20 minutos após a administração); a evolução

do quadro clínico foi de 10 minutos. O animal apresentava-se de pé, com a cabeça baixa e intensos tremores em diversos grupos musculares, taquicardia (FC 184), poucos segundos depois, o animal subitamente começou a correr e a pular dentro da baia até chocar-se com a cabeça contra a parede e cair em decúbito lateral esquerdo com a cabeça encostada no lado esquerdo do tórax, apresentou opistótono, esticou os quatro membros e parou de movimentar-se. Às 16:38 horas, o animal começou a manifestar tremores musculares intensos, bem como, movimentos de pedalagem com os 4 membros por 1 minuto e meio. Às 16:43 horas, verificou-se FC 216 com moderada arritmia. O animal morreu às 16:45 horas.

Achados de necropsia: Veia cava caudal e cranial e ilíacas dilatadas e repletas ++(+); vasos intercostais dilatados ++(+). Presença de líquido espumoso avermelhado do esôfago até a base da língua. Havia líquido no saco pericárdico ++(+) (hidropericárdio) e líquido espumoso avermelhado da traquéia aos brônquios ++(+), edema pulmonar. Lobos pulmonares caudais pesados, armados e com pequenas manchas avermelhadas distribuídas por todo o parênquima; lobos apicais com algumas manchas avermelhadas na face medial. Fígado com discreto pontilhado branco.

**Ovino 5765 (SAP: 31265)**, macho, mestiço, com 3 anos de idade e 53kg. Em 22/04/2008 foi realizado exame clínico completo. O animal apresentou FC 88, FR 36, T 39,2°C, MR 1 em um minuto, mucosas normocoradas e Ht 35%. No mesmo dia, às 17:08 horas foi administrado o MF na dose única de **1,0 mg/kg** de peso (53 mg) por via oral. Os primeiros sinais clínicos foram notados em 23/04/2008, às 02:52 horas (9 horas e 44 minutos após a administração); a evolução do quadro clínico foi de 3 minutos. O animal apresentava-se em decúbito esternal, levantou-se e subitamente correu em círculos dentro da baia por 10 segundos até cair em decúbito lateral esquerdo; exibiu moderado tremor muscular nos membros pélvicos e de leve a moderado nos torácicos e em seguida esticou os quatro membros. Às 02:54 horas verificou-se taquicardia (FC 180) com moderada arritmia. O animal morreu às 02:55 horas.

Achados de necropsia: veia cava caudal e cranial dilatadas e repletas ++(+), veia ilíaca dilatada ++(+); jugular ingurgitada ++++. O coração apresentava-se com o ventrículo direito saculado, dilatado e com as aurículas congestionadas ++. Presença de líquido espumoso avermelhado ++(+) da traquéia aos brônquios do lobo caudal direito. O lobo caudal esquerdo do pulmão apresentava, na superfície, uma área mais avermelhada irregular com pequenos pontos de hemorragia (pequenas equimoses). A bexiga estava repleta.

**Ovino 5764 (SAP: 31263)**, fêmea, mestiça, com 2 anos de idade e 36kg. Em 17/04/2008 foi realizado exame clínico completo. O animal apresentou FC 80, FR 32, T 39,0° C, MR 2 em um minuto, mucosas normocoradas e Ht 27%. No mesmo dia, às 17:42 horas, foi realizada a primeira administração do MF na dose subletal de **0,1 mg/kg** de peso (3,6 mg) por via oral. No dia seguinte 18/04/2008 às 17:05 horas, verificaram FC 92, FR 32, T 39,2° C e foi realizada a segunda administração do MF na dose subletal de 0,1 mg/kg de peso. Em 19/04/2008 às 17:10 horas, verificaram FC 88, FR 32, T 38,2° C e foi realizada a terceira administração do MF na dose subletal de 0,1 mg/kg de peso. No dia seguinte 20/04/2008 às 17:00 horas, verificaram FC 84, FR 44, T 38,6° C e foi realizada a quarta administração do MF na dose subletal de 0,1 mg/kg de peso. Não foram notados sinais clínicos e no dia seguinte 21/04/2008 às 8:00 horas, o ovino foi encontrado morto em decúbito lateral esquerdo, dentro da baia, ainda quente (temperatura: 38°,1 C), não apresentava *rigor mortis* (a musculatura estava flácida), com as mucosas ainda úmidas e sangue não-coagulado.

Achados de necropsia: Veia cava caudal e cranial dilatadas e repletas ++(+), veia ílíaca dilatada ++ e vasos intercostais evidentes. Jugular ingurgitada ++(+). Coração com petéquias no epicárdio ++ e aurículas esquerda e direita congestionadas +++. Presença de líquido espumoso avermelhado da traquéia aos brônquios +. Pulmões congestionados ++ e com edema +.

**Ovino 5766 (SAP: 31266)**, macho, mestiço, com 3 anos de idade e 44kg. Em 19/04/2008 foi realizado exame clínico completo. O animal apresentou FC 92, FR 32, T 38,6°C, MR 2 em um minuto, mucosas normocoradas e Ht 34%. No mesmo dia, às 17:00 horas, foi realizada a primeira administração do MF na dose subletal de **0,2 mg/kg** de peso (8,8 mg) por via oral. No dia seguinte 20/04/2008 às 16:40 horas, verificaram FC 104, FR 32, T 38,7° C e foi realizada a segunda administração do MF na dose subletal de 0,2 mg/kg de peso. Em 21/04/2008 às 16:57 horas, verificaram FC 80, FR 44, T 39,3° C e, em seguida, foi realizada a terceira administração do MF na dose subletal de 0,2 mg/kg de peso. No dia seguinte 22/04/2008 às 16:11 horas, verificaram FC 76, FR 24, T 39,2° C. Quarenta minutos depois, realizou-se a quarta administração do MF na dose subletal de 0,2 mg/kg de peso. Os primeiros sinais clínicos foram notados logo após o exame ultra-sonográfico em 23/04/2008, às 09:31 horas (3 dias, 16 horas e 31 minutos após a administração); a evolução do quadro clínico foi de 33 horas e 5 minutos. Ao fim do exame ultra-sonográfico, o animal se manteve em decúbito esternal, apresentava tremores em diversos grupos musculares e taquicardia (FC 148). O quadro clínico permaneceu inalterado até às 10:24 horas, quando o animal levantou-se e os sintomas ficaram menos evidentes, verificou-se FC 136, FR 32 e T 38,2° C. Às 14:01 horas, o animal estava mais calmo, deitou e ruminou. Trinta minutos depois, o animal manifestava leves tremores musculares na região da escápula e glútea, e verificaram FC 112, FR 32, T 38,2° C. Às 17:03 horas, foi realizada a quinta administração do MF na dose subletal de 0,2 mg/kg de peso. Uma hora depois, o animal apresentava-se um pouco apático, verificaram FC 124, FR 32, T 38,8° C e começou a deitar e levantar com frequência. Durante o exame clínico, realizado às 20:01 o animal levantou-se e apresentou FC 136, FR 24, T 39,3° C. Uma hora depois, ainda apresentava taquicardia (FC 144). Às 22:29 horas, apresentou intensa taquicardia (FC 184), FR 24 e 39,5° C. No dia seguinte 24/04/2008 às 00:00 horas, verificaram FC 156, FR 28, T 39° C, apatia e relutância ao movimento. Duas horas depois apresentava a jugular ingurgitada e mantinha relutância à movimentação, verificou-se FC 108, FR 32, T 38,4° C. Meia hora depois, o animal apresentava-se de pé, parado e com a cabeça baixa. Após dez minutos, deitou-se e permaneceu deitado, apático até o próximo exame clínico às 05:00 horas, quando levantou cambaleante, urinou, apresentava relutância ao movimento e FC 120, FR 24, T 38,2° C. Em seguida, deitou-se com o pescoço estendido e com a cabeça encostada no chão. Às 07:50 horas, o animal ficou de pé com a cabeça baixa, apático, apresentava tremores musculares em diversos grupos musculares e FC 108, FR 32, T 37,8° C. Em seguida, passou a deitar-se e a levantar-se com frequência. O quadro clínico permaneceu inalterado até às 09:40 horas, quando se agravou e verificou-se FC 132, respiração abdominal moderada e taquipneica (FR 80), T 37,9° C e tremores musculares mais intensos. Vinte minutos depois, deitou-se com o pescoço estendido e a cabeça encostada no chão. Às 10:15 horas, o animal ficou de pé mas permaneceu com a cabeça baixa e respiração predominantemente abdominal (FR 64). Dez minutos depois, estava inquieto, deitava e levantava várias vezes. Após 5 minutos, o animal apresentava-se apático e deitou-se com o pescoço esticado e com a cabeça encostada no chão. Verificou-se a FC em intervalos de aproximadamente quinze minutos, durante uma hora; às 10:30 horas, observou-se FR 36, e FC 128, e em seguida FC 136, 144, 156 e às 11:30 horas 136. O quadro clínico se manteve inalterado até às 13:56 horas, quando verificou-se gradativa diminuição da FC (120, 116 e 112) em



intervalos de uma hora até as 15:56 horas. Em seguida, às 16:25 horas, foi realizado o exame ultra-sonográfico. Durante o exame verificou-se acentuada taquicardia (FC 184) e taquipnéia (FR 120). Ao término do exame, vinte minutos depois, o animal deitou-se e encostou a cabeça no chão. Dez minutos depois, o animal apresentou arritmia e FC 128. Às 17:00 horas, foi realizada a sexta administração do MF na dose subletal de 0,2 mg/kg de peso. O animal não comeu nada o dia todo, apesar de ter sido fornecido capim à vontade no cocho. Às 17:23 horas, o animal estava de pé com a cabeça baixa e verificaram FC 120, FR 36 e T 38,7° C. Às 18:08 horas, deitou-se em decúbito esternal e após 12 minutos apresentava FC 204. Às 18:30 horas, o animal passou para o decúbito lateral direito. Quatro minutos depois, apresentava taquicardia (FC 200), arritmia, respiração abdominal intensa (FR 92). Um minuto depois, esticou os membros posteriores, flexionou os anteriores e exibiu leve opistótono. O animal morreu às 18:36 horas.

Achados de necropsia: veia cava caudal e cranial dilatadas e repletas ++(+), veia ilíaca dilatada ++(+) e vasos intercostais dilatados ++(+). Jugular ingurgitada ++(+). Modera dilatação cardíaca direita e esquerda. Aurículas esquerda e direita congestionadas ++. Hidropericárdio +. Presença de líquido espumoso avermelhado da traquéia aos brônquios ++(+). Pulmão “armado” com presença de petéquias e equimoses na superfície e, ao corte saía líquido espumoso ++(+)

**Anexo B.** Incidência de DHV em bovinos e coelhos intoxicados experimentalmente pelas plantas brasileiras que causam “morte súbita”.

Planta	Intoxicação pelas folhas frescas	Espécie animal	
		Bovinos	Coelhos
<i>Palicourea marcgravii</i>	18/27 <sup>a</sup> 66,6%	14/116 12,0%	
<i>Palicourea aeneofusca</i>	1/2 50%	—	
<i>Palicourea juruana</i>	1/3 <sup>b</sup> 33,3%	3/14 21,4%	
<i>Palicourea grandiflora</i>	4/6 66,6%	1/7 14,2%	
<i>Arrabidaea bilabiata</i>	4/9 44,4%	9/26 34,6%	
<i>Arrabidaea japurensis</i>	7/8 87,5%	1/9 11,1%	
<i>Pseudocalymma elegans</i>	3/8 37,5%	1/13 7,7%	
<i>Mascagnia rigida</i>	3/7 42,8%	5/7 71,4%	
<i>Mascagnia pubiflora</i>	3/5 60%	3/7 42,8%	
<i>Mascagnia aff. rigida</i>	3/6 50%	7/14 50%	
<i>Mascagnia exotropica</i>	3/5 60%	—	
<i>Mascagnia elegans</i>	—	—	

Tabela adaptada de Peixoto et al. (1987) e Tokarnia, Döbereiner e Peixoto (2000).

Dados referentes à intoxicação por *Palicourea juruana* em bovinos (OLIVEIRA et al., 2004).

Dados referentes à intoxicação por *Pseudocalymma elegans* coelhos (HELAYEL, 2008) e Tavares, Rezende e Döbereiner (1974).

<sup>a</sup>Em búfalos 1/3 (33,3%), Barbosa et al. (2003).

<sup>b</sup>Em búfalos 1/1 (100%), Oliveira et al. (2004).

**Anexo C.** Comparação do quadro clínico da intoxicação pelo MF e por plantas que causam “morte súbita” manifestado por diversas espécies animais. Complementação e modificações das categorias propostas por Chenoweth e Gilman (1946) (continua).

<b>Categoria</b>	<b>Espécie animal</b>	<b>Principais sinais clínicos da intoxicação por MF</b>	<b>Referências</b>	<b>Principais sinais clínicos da intoxicação por plantas que causam “morte súbita”</b>	<b>Referências</b>
<b>I</b> O efeito se faz primariamente sobre o coração	<b>Ovinos<sup>a</sup></b>	Agitação, hiperatividade, alterações posturais, diminuição dos movimentos ruminais, fraqueza, incontinência urinária, taquicardia, arritmia, pulso fraco, taquipnéia, dispnéia, espasmos e tremores musculares, caem ao solo e/ou entram em decúbito, apresentam movimentos de pedalagem e morte.	Schultz et al. (1982); Jensen, Tobiska e Ward, 1948); Annison et al. (1960).	Taquipnéia, taquicardia, relutância em mover-se, decúbito esterno-abdominal, andar com passos curtos e membros rígidos, tremores musculares generalizados, fraqueza, incapacidade de ficar de pé, decúbito lateral, respiração ofegante e espaçada, dispnéia, movimentos de pedalagem intermitentes, opistótono e morte.	Tokarnia, Peixoto e Döbereiner (1986); Consorte, Peixoto e Tokarnia (1994); Vasconcelos et al. (2008).
	<b>Caprinos</b>	Depressão, fraqueza, tremores musculares, taquipnéia, dispnéia, ranger de dentes, vômito, balidos frequentes, opistótono, fibrilação ventricular e morte.	Chenoweth e Gilman (1946); Foss (1948); Joon et al. (1982).	Relutância em caminhar, andar com os membros rígidos, decúbito esterno-abdominal, taquicardia, taquipnéia, respiração ofegante, dispnéia, arritmia, tremores musculares, instabilidade, balidos frequentes, decúbito lateral, ingurgitamento das veias jugulares, pulso venoso positivo, movimentos de pedalagem, opistótono e morte.	Pacheco e Carneiro (1932a); Tokarnia, Peixoto e Döbereiner (1991); Tokarnia, Peixoto e Döbereiner (1993); Vasconcelos et al. (2008).
	<b>Bovinos<sup>a</sup></b>	Taquicardia, jugular repleta com pulso venoso positivo, respiração abdominal, perda de equilíbrio, apoiam a cabeça no flanco, levantam e deitam em decúbito esternal repetidamente, poliúria, tremores musculares, sialorréia, veias da face ingurgitadas, queda, decúbito lateral, movimentos de pedalagem, respiração ofegante, opistótono, nistagmo, mugidos e morte.	Nogueira (2009); Robison (1970); Schnautz (1949); Jubb, Kennedy e Palmer (2007).	Pulso venoso positivo, instabilidade, perda de equilíbrio, taquipnéia, dispnéia, taquicardia, relutância em mover-se, micção frequente, nistagmo, tremores musculares, decúbito esterno-abdominal e, posteriormente, lateral, queda, movimentos de pedalagem, mugidos, opistótono, tremores musculares	Döbereiner e Tokarnia (1959); Tokarnia, Canella e Döbereiner (1961); Tokarnia et al. (1969); Tokarnia e Döbereiner (1973); Tokarnia e Döbereiner (1981); Tokarnia, Döbereiner e Silva (1981); Tokarnia e Döbereiner (1982); Döbereiner, Tokarnia e Silva (1983); Tokarnia et al. (1983); Tokarnia, Döbereiner e Peixoto (1985); Tokarnia e Döbereiner (1986); Tokarnia et al. (1990); Gava et al. (1998); Tokarnia, Döbereiner e Peixoto (2000); Barbosa et al. (2003); Oliveira et al. (2004); Tokarnia et al. (2004); Helayel (2008).

<sup>a</sup> Chenoweth e Gilman (1946), não realizaram experimentos com bovinos e ovinos, e, portanto não agruparam essas espécies em nenhuma categoria. A nosso ver, essa espécie deve ser incluída na categoria I.

## Anexo C. Continuação.

<p><b>I</b></p> <p>O efeito se faz primariamente sobre o coração</p>	<p><b>Coelhos</b></p>	<p>Distúrbios motores, tremores, fraqueza muscular, incordenação, hipersensibilidade sonora, apatia, letargia, inquietação, dispnéia, alteração comportamental, hipotermia, fibrilação ventricular e morte.</p>	<p>Chenoweth e Gilman (1946); Foss (1948); Meldrum e Bignell (1957); Mcilroy (1982a); Quin e Clark (1947); Nwude et al. (1977); Huang et al. (1980).</p>	<p>Súbitos movimentos desordenados, debatem-se e/ou pulam, em geral, violentamente, caem em decúbito lateral ou esternal, apatia, tremores, respiração ofegante e espaçada seguido de morte.</p>	<p>Pacheco e Carneiro (1932a); Peixoto et al. (1987); Tokarnia e Döbereiner (1982); Döbereiner e Tokarnia (1983); Jabour et al. (2006); Döbereiner, Peixoto e Tokarnia (1984); Döbereiner e Tokarnia (1982); Tavares, Rezende e Döbereiner (1974); Döbereiner et al. (1986); Górnaiak (1986); Tokarnia, Döbereiner e Canella (1987); Tokarnia, Döbereiner e Peixoto, (1994).</p>
	<p><b>Gatos</b></p>	<p>Sialorréia, vômitos, miados frequentes, midríase, nistagmo, taquipnéia, dispnéia, hiperexcitabilidade (reflexos exagerados e hiperestesia à luz e ao toque) hipotermia, incontinência urinária, tremores musculares, ataxia, convulsões tônico-clônicas e, ocasionalmente, fibrilação ventricular e morte.</p>	<p>Chenoweth e Gilman (1946); Foss (1948); Collicchio-Zuanaze et al. (2006); Gammie (1980).</p>	<p>Vômitos, miados frequentes, nistagmo midríase, apatia, hiperexcitabilidade, hipersensibilidade a estímulos externos, tremores musculares e convulsões<sup>b</sup>.</p>	<p>Brito (2009, dados-não publicados)<sup>b</sup>.</p>
<p><b>II</b></p> <p>O efeito se faz tanto sobre o coração quanto sobre o SNC</p>	<p><b>Equinos<sup>c</sup></b></p>	<p>Podem manifestar, além da fibrilação ventricular evidências de colapso circulatório incluindo fraqueza, taquipnéia, hipotermia tremores musculares, sudorese profusa e pulso acelerado com evolução a óbito por insuficiência respiratória.</p>	<p>Chenoweth e Gilman (1946); Quin e Clark (1947); Egekeze e Oehme (1979a).</p>	<p>Sinais de insuficiência cardíaca, como pulso venoso positivo, conjuntivas congestas, respiração ofegante, dispnéia e sintomatologia nervosa caracterizada por sudorese intensa, inquietação, tremores, movimentos abruptos involuntários da cabeça ou generalizados (tiques), instabilidade, incordenação e flacidez do lábio inferior.</p>	<p>Pacheco e Carneiro (1932a); Tokarnia et al. (1993); Tokarnia et al. (1995).</p>
<p><b>III</b></p> <p>O efeito se faz primariamente sobre o SNC</p>	<p><b>Cães</b></p>	<p>Vômitos, micção frequente, latidos excessivos, sialorréia, espuma na boca e narinas, taquipnéia, convulsões tônico-clônicas recorrentes, dispnéia e morte.</p>	<p>Chenoweth e Gilman (1946); Chenoweth (1949); Egyed e Shupe (1971); Buch et al. (1976).</p>	<p>Vômitos frequentes, acentuada sialorréia, latidos excessivos, episódios convulsivos intermitentes, rigidez muscular, opistótono e morte.</p>	<p>Pacheco e Carneiro (1932a).</p>
	<p><b>Cobaios</b></p>	<p>Episódios convulsivos, hiperexcitabilidade, dispnéia, apreensão e convulsões tônicas.</p>	<p>Chenoweth e Gilman (1946); Quin e Clark (1947); Foss (1948).</p>	<p>Hiperexcitabilidade, tremores musculares, incoordenação, movimentos de pedalagem, convulsões e morte.</p>	<p>Pacheco e Carneiro (1932a); Tavares, Rezende e Döbereiner (1974); Górnaiak (1986).</p>

<sup>b</sup> Sinais clínicos manifestados por gatos após a ingestão acidental de carcaças de ratos experimentalmente intoxicados com extratos aquosos de *M. rigida* e *P. elegans* (possível intoxicação secundária).

<sup>c</sup> Chenoweth e Gilman (1946) agruparam equinos intoxicados por MF na categoria I, no entanto, afirmaram ser difícil determinar se havia, de fato, ausência de sintomas nervosos, uma vez que os animais foram anestesiados. Anos depois, outros autores descrevem sintomas referentes também ao SNC (EGEKEZE; OEHME, 1979a). Desta forma, acreditamos que essa espécie deva ser incluída na categoria II.

**Anexo C. Continuação.**

<b>III</b>  O efeito se faz primariamente sobre o SNC	<b>Ratos</b>	Fraqueza, severa bradicardia, apatia, prostração, pelos arrepiados, midríase, tremores, taquipnéia, dispnéia, alteração postural, hiperexcitabilidade, vocalizações atípicas, tremores de cabeça, espasmos musculares, convulsões do tipo tônicas e tônico-clônicas, movimentos de pedalagem e morte.	Chenoweth e Gilman (1946); Egekeze e Oehme (1979a); Foss (1948); Hayes et al., (1973); Eckschimidt et al. (1989); Moraes (1993); Górnaiak, Palermo-Neto e Spinosa (1994); Cunha (2008).	Apatia, progressiva prostração, pelos arrepiados, taquipnéia, dispnéia, decúbito abdominal, tremores musculares, mioclonia facial, tremores de cabeça, convulsões do tipo tônicas e tônico-clônicas, movimentos de pedalagem e morte.	Pacheco e Carneiro (1932a); Pinto et al. (2008). Górnaiak (1986); Górnaiak (1988); Eckschimidt et al. (1989); Moraes (1993); Górnaiak, Palermo-Neto e Spinosa (1994); Cunha (2008).
	<b>Hamsters<sup>d</sup></b>	Fraqueza, severa bradicardia, tremores, hiperexcitabilidade, hipersensibilidade a estímulos, alteração postural e convulsões tônicas.	Chenoweth e Gilman (1946);	Episódios convulsivos seguidos de morte	Górnaiak (1986).

<sup>d</sup> Segundo a classificação de Chenoweth e Gilman (1946), ratos e hamsters pertencem à classe IV, por apresentarem sintomatologia atípica. Estudos posteriores demonstraram que ratos intoxicados por esse composto apresentam típica sintomatologia nervosa, caracterizada, em especial, por frequentes convulsões (FOSS, 1948; EGEKEZE; OEHME 1979a; CUNHA, 2008; PEIXOTO et al., 2009 dados-não-publicados). Contudo, somos da opinião que ratos e hamsters pertencem à classe III.

**Anexo D.** Período decorrido entre a administração de doses únicas de folhas frescas de *Palicourea marcgravii* e a morte dos bovinos e a intensidade da DHV.

Bovino n°	Dose g/kg	Tempo decorrido entre a administração da planta e a morte do animal	Intensidade da DHV*	
3433	1,2	Até 8h	-	
3445	1,0		++(+)	
3982	2,0		+	
3983	2,0		-	
4067	2,0		++	
4087	2,0		(+)	
866	2,1		-	
880	2,1		-	
3432	3,0		-	
4176	3,0		+	
4272	3,3		-	
3442	0,77		Entre 8h e 12h	+
3434	1,8			+++
3583	2,0	-		
4271	1,24	+++		
500	5,41	++		
953	15	-		
3973	5,0	-		
955	1,7	Mais de 12h	+++	
956	0,5		++(+)	
3769	0,6		+++	
3773	0,4		+++	
4174	1,0		+(+)	
505	6,6		++	
508	3,3		+++	
843	3,1		++	
4182	3,2		++(+)	

Tabela adaptada de Tokarnia e Döbereiner (1986).

\*Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear: acentuada +++, moderada a acentuada ++(+), moderada + +, leve +, leve a moderada +(+) , discreta (+), ausente -.