

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**IMPORTÂNCIA DA INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA POR *Niedenzuella stannea*
(MALPIGHACEAE) EM BOVINOS NO ESTADO DE MATO GROSSO E
REPRODUÇÃO DO QUADRO CLÍNICO E LESIONAL DA INTOXICAÇÃO EM
OVINOS**

Flávio Henrique Bravim Caldeira

Cuiabá – MT
2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**IMPORTÂNCIA DA INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA POR *Niedenzuella stannea*
(MALPIGHACEAE) EM BOVINOS NO ESTADO DE MATO GROSSO E
REPRODUÇÃO DO QUADRO CLÍNICO E LESIONAL DA INTOXICAÇÃO EM
OVINOS**

Autor: Flávio Henrique Bravim Caldeira

Orientador: Prof. Dr. Edson Moleta Colodel

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de concentração: Sanidade de animais domésticos e silvestres, da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso para obtenção do título de Doutor em Ciências Veterinárias.

Cuiabá - MT
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

C146i Caldeira, Flávio Henrique Bravim.
IMPORTÂNCIA DA INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA POR *Niedenzuella stannea* (MALPIGHIACEAE) EM BOVINOS NO ESTADO DE MATO GROSSO E REPRODUÇÃO DO QUADRO CLÍNICO E LESIONAL DA INTOXICAÇÃO EM OVINOS / Flávio Henrique Bravim Caldeira. -- 2016
39 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientador: Edson Moleta Colodel.

Co-orientador: Caroline Argenta Pescador.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Cuiabá, 2016.

Inclui bibliografia.

1. *Niedenzuella stannea*. 2. plantas tóxicas. 3. monofluoracetato de sódio. 4. morte súbita. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
Avenida Fernando Corrêa da Costa, 2367 - Boa Esperança - Cep: 78060900 - CUIABÁ/MT
Tel : +55 65 3615-8627 - Email : cpgvet@ufmt.br

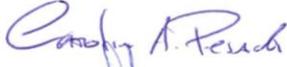
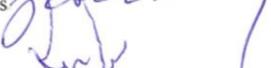
FOLHA DE APROVAÇÃO

TÍTULO : "IMPORTÂNCIA DA INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA POR *Niedenzuella stannea* (MALPIGHIACEAE) EM BOVINOS NO ESTADO DE MATO GROSSO E REPRODUÇÃO DO QUADRO CLÍNICO E LESIONAL DA INTOXICAÇÃO EM OVINOS."

AUTOR : Doutorando Flávio Henrique Bravim Caldeira

Tese de Doutorado defendida e aprovada em 01/09/2016.

Composição da Banca Examinadora:

Presidente Banca / Orientador	Doutor	Edson Moleta Colodel	
Instituição :	UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO		
Examinador Interno	Doutora	Caroline Argenta Pescador	
Instituição :	UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO		
Examinador Interno	Doutor	Fernando Henrique Furlan Gouvêa	
Instituição :	UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO		
Examinador Externo	Doutor	Claudio Severo Lombardo de Barros	
Instituição :	UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL		
Examinador Externo	Doutor	Ricardo Antonio Amaral de Lemos	
Instituição :	UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL		
Examinador Suplente	Doutor	Pedro Eduardo Brandini Nespoli	
Instituição :	UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO		

CUIABÁ, 01/09/2016.

RESUMO

IMPORTÂNCIA DA INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA POR *Niederzuehlla stannea* (MALPIGHIACEAE) EM BOVINOS NO ESTADO DE MATO GROSSO E REPRODUÇÃO DO QUADRO CLÍNICO E LESIONAL DA INTOXICAÇÃO EM OVINOS

O objetivo deste trabalho é relatar os aspectos epidemiológicos de uma enfermidade de caráter agudo, caracterizada por morte súbita associada ao exercício, que acomete bovinos na região de bacias hidrográficas do Rio Araguaia, especialmente no município de Torixoréu, sudeste do estado de Mato Grosso, Brasil, e também relatar os achados clínicos e patológicos da intoxicação experimental por *Niederzuehlla stannea* em ovinos. Entre agosto e setembro de 2013, foram visitadas e inspecionadas as pastagens em 80 propriedades rurais do município, e em 65 aplicado um questionário epidemiológico. Uma planta identificada como *Niederzuehlla stannea* (Malpighiaceae), é incriminada como causadora de morte súbita em bovinos gerando grandes prejuízos econômicos. Surtos ocorreram em diferentes meses do ano, variando de maio à outubro, sendo a maior parte concentrada durante o período de seca, especialmente nos meses de junho à agosto. *N. stannea* foi identificada em 41 propriedades, sendo presente próxima aos leitos de rios. Os métodos de controle da planta relatados como mais eficazes foram o arar da pastagem e roça manual seguida da aplicação de Tordon® (Picloran e 2,4D). Coletou-se *N. stannea* onde havia histórico de morte súbita em bovinos. Foram avaliados dois estágios vegetativos de Folhas: maduras, que eram fibrosas e com coloração verde escuro e em brotações que se apresentavam tenras e de coloração verde clara. Onze ovinos receberam folhas de *N. stannea*. Folhas adultas não causaram alterações clínicas em doses de 5-40g/kg. Alterações clínicas e patológicas foram observadas no grupo de animais que receberam brotações de *N. stannea*. Os sinais clínicos observados em ovinos que receberam dose única de 30g/kg foram anorexia, apatia, dispneia, arritmia e taquicardia em evolução clínica que variou de 16 a 20h. Notava-se uma fase terminal hiperaguda caracterizada por relutância ao movimento, micção frequente, jugular ingurgitada, pulso venoso evidente, tremor muscular, decúbito esternal e decúbito lateral e morte em evolução clínica média de 10min. Na necropsia os principais achados foram ingurgitamento de grandes veias e aurícula do coração e edema pulmonar. Microscopicamente observou-se degeneração hidrópico-vacuolar citoplasmática com cariopcnose nuclear no epitélio de túbulos contorcidos distais. Monofluoracetato de sódio foi caracterizado como princípio da *N. stannea* relacionado ao

quadro clínico. Neste estudo, os sinais de intoxicação foram precipitados pela movimentação em todos os ovinos, o que também é relatado nos casos de intoxicação espontânea principalmente nos manejos para as vacinações obrigatórias. Este fator coloca *N. stannea* no grupo de plantas que causam morte súbita devendo assim ser considerada como diagnóstico diferencial de quadros clínicos de evolução aguda nas regiões centrais do Brasil. Conclui-se que as mortes súbitas em bovinos em áreas da bacia hidrográfica do rio Araguaia se devem ao consumo de *N. stannea*.

Palavras-Chave: *Niedenzuella stannea*, plantas tóxicas, intoxicação experimental, morte súbita.

ABSTRACT

IMPORTANCE OF SPONTANEOUS POISONING BY *Niedenzuella stannea* (MALPIGHIACEAE) IN CATTLE IN MATO GROSSO STATE AND REPRODUCTION OF CLINICAL AND LESIONAL POISONING IN SHEEP

The aim of this study was to investigate the importance of an acute disease that is characterized by sudden death associated with exercise, which affects cattle in the region of the Araguaia River, especially in the municipality of Torixoréu, in the southeastern region of the State of Mato Grosso, Brazil, and also report the clinical and pathological findings of experimental poisoning by *Niedenzuella stannea* in sheep. Between August and September 2013, 80 farms in the municipality were visited, and the pastures of these farms were inspected. Epidemiological questionnaires were completed in 65 farms. A plant identified as *Niedenzuella stannea* (Malpighiaceae) was attributed to the cause of sudden death in cattle causing major economic losses. Sudden death reports have occurred since 1970 when livestock was introduced in the region, and sudden death reports still occur to date. Outbreaks were reported to occur in different months of the year, ranging from May to October, mainly during the dry season between June and August. *N. stannea* was identified at 41 properties, and it was always found close to rivers. The most effective plant control methods included plowing the pastures and fields followed by manual application of Tordon® (Picloran and 2.4D). *N. stannea* was collected in areas with history of sudden death in cattle. We evaluated two growing stages of the plant: mature, which were fibrous and dark green color and young leaves which had tender and bright green. Leaves of *N. stannea* were administered to eleven sheep. Adult leaves caused no clinical changes in doses of 5-40g/kg. Clinical and pathological changes were only observed in the group of animals who received shoots of *N. stannea*. Clinical signs observed in sheep received a single dose of 30g/kg were anorexia, lethargy, dyspnea, tachycardia arrhythmia and clinical course varying from 16 to 20h. Was noted a hyperacute terminal phase characterized by reluctance to move, frequent urination engorged jugular, obvious venous pulse, muscle tremor, sternal recumbency and lateral recumbency and death in clinical evolution average of 10 minutes. At necropsy the main findings were engorgement of the large veins and atrium of the heart and pulmonary edema. Microscopically observed degeneration with nuclear picnosis in the epithelium of distal convoluted tubules. Sodium monofluoroacetate was characterized as a principle of *N. stannea*

related to the clinical picture. In this study, the signs of intoxication were precipitated by the movement in all sheep, which is also reported in cases of spontaneous poisoning mainly in the managements for obligatory vaccinations. This factor puts *N. stannea* the group of plants that cause sudden death and should therefore be considered in the differential diagnosis of clinical cases of acute evolution in the central regions of Brazil. It was concluded that the sudden deaths in cattle in areas of the basin of the Araguaia river are due to the consumption of *N. stannea*.

Keywords: *Niedenzuella stannea*, toxic plants, experimental poisoning, sudden death.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	06
REFERÊNCIAS	10
2 CAPITULO I – MANUSCRITO "Sudden Death associated with <i>Niedenzuella stannea</i> (Malpighiaceae) in cattle in the state of Mato Grosso, Brazil: Importance and epidemiological aspects"	12
3 CAPITULO II - MANUSCRITO " Intoxicação experimental por <i>Niedenzuella stannea</i> (Malpighiaceae) em ovinos"	24

1 INTRODUÇÃO

Problemática

Uma enfermidade de caráter agudo foi observada na região rural do município de Torixoréu, Mato Grosso. A principal queixa apresentada pelos produtores é de que, após os bovinos serem introduzidos em pastagens que continham uma planta da família Malpighiaceae denominada na região como “erva”, alguns apresentavam relutância em se levantar, andar rígido, tremores musculares, taquicardia e dispnéia. Os animais entravam em decúbito rapidamente, apresentam movimentos de pedalagem seguido de óbito, caracterizando o quadro conhecido como morte súbita. Plantas que conhecidamente causam morte súbita não foram encontradas ou relatadas nas propriedades com histórico da doença que ocorre no município.

A planta suspeita de causar a enfermidade na região rural do município de Torixoréu foi coletada, prensada, seca, e enviada para o professor William R. Anderson, do herbário da Universidade de Michigan, Ann Arbor, Michigan, Estados Unidos, para identificação taxonômica e foi identificada como sendo a espécie *Niederzuehlla stannea*, pertencente à família Malpighiaceae. Essa planta é encontrada nas regiões Amazônicas e de Pantanal e possui distribuição geográfica conhecida nos estados do Pará, Rondônia, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (Mamede, 2015), mas ainda não foi apontada na literatura como sendo tóxica.

Família Malpighiaceae

As plantas que causam “morte súbita” são as mais importantes do grupo de plantas tóxicas de interesse pecuário no Brasil, e são responsáveis por metade das mortes causadas por consumo de plantas em bovinos (Tokarnia et al. 2012). As principais plantas associadas a este tipo de intoxicação pertencem a três famílias: Rubiaceae, Malpighiaceae, e Bignoniaceae (Tokarnia et al. 1990).

Plantas da família Malpighiaceae são plantas arbustivas ou trepadeiras, encontradas em florestas e savanas, tropicais e subtropicais, com folhas opostas simples, flores bilateralmente simétricas com duas grandes glândulas de óleo na superfície abaxial de quatro ou todas as cinco sépalas e frutos que podem ser secos, carnudos, eriçados e alados (Anderson, 2004). Essas características variadas fizeram que primeiramente a família fosse dividida em gêneros e espécies de acordo com a morfologia dos frutos (Fig. 01) (Niederzuehlla, 1928). Porém estudos posteriores moleculares evidenciaram a problemática desta taxonomia baseado em características simples (Cameron et al. 2001).

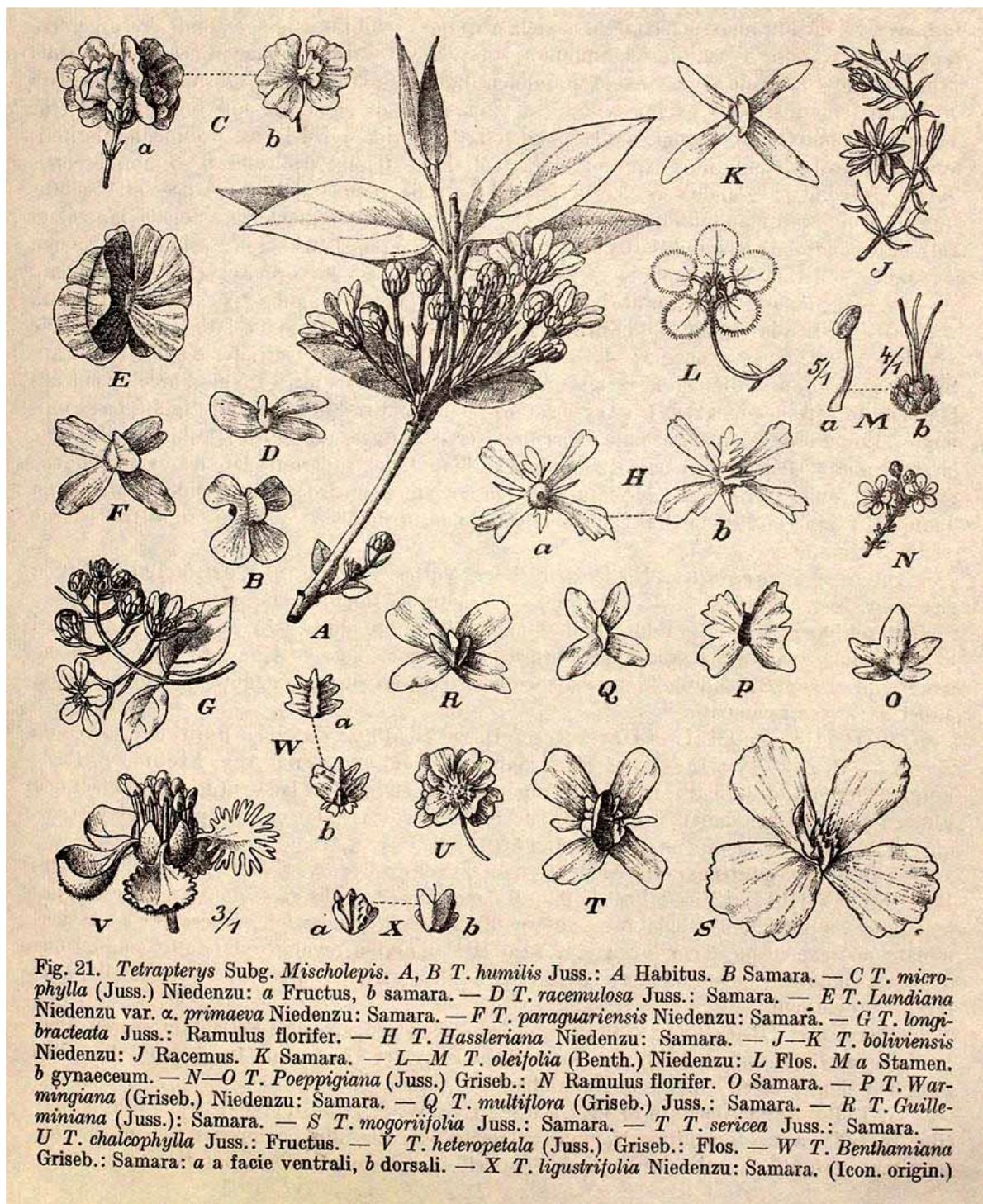


Figura 1 – Primeiras classificações das plantas do gênero *Malpighiaceae*, baseando-se em caracteres morfológicos principalmente dos frutos. (Niedenzu, 1928).

A família *Malpighiaceae* alberga um grande número de plantas responsáveis por causar morte súbita e possui ampla distribuição pelo território brasileiro. Anteriormente grande parte destas plantas era classificada como pertencentes ao gênero *Mascagnia*, sendo este gênero reclassificado recentemente por parâmetros morfológicos e moleculares,

dividindo-se em 11 gêneros (Davis e Anderson, 2010), sendo as plantas que causam “morte súbita” agrupadas no gênero *Amorimia* (Anderson, 2006). Entre elas *Amorimia exotropa* (Gava et al. 1998; Pavarini et al. 2011), *Amorimia pubiflora* (Becker et al. 2013), *Amorimia septentrionalis* (Silva et al. 2006), *Amorimia amazonica* (Schons et al. 2011) e *Amorimia rigida* (Silva et al. 2006).

Niedenzuella stannea (Fig. 02) anteriormente designada *Heteropterys stannea* (Grisebach) e *Mascagnia stannea* (Niedenzu), foi reclassificada por ANDERSON (2006), e incluída no gênero *Niedenzuella*, que alberga outras 16 espécies, dentre as quais se destacam *Niedenzuella* (Tetrapterys) *multiglandulosa* e *Niedenzuella* (Tetrapterys) *acutifolia*, anteriormente já descritas causando intoxicação em animais (Caldas et al, 2011, Carvalho et al, 2006)

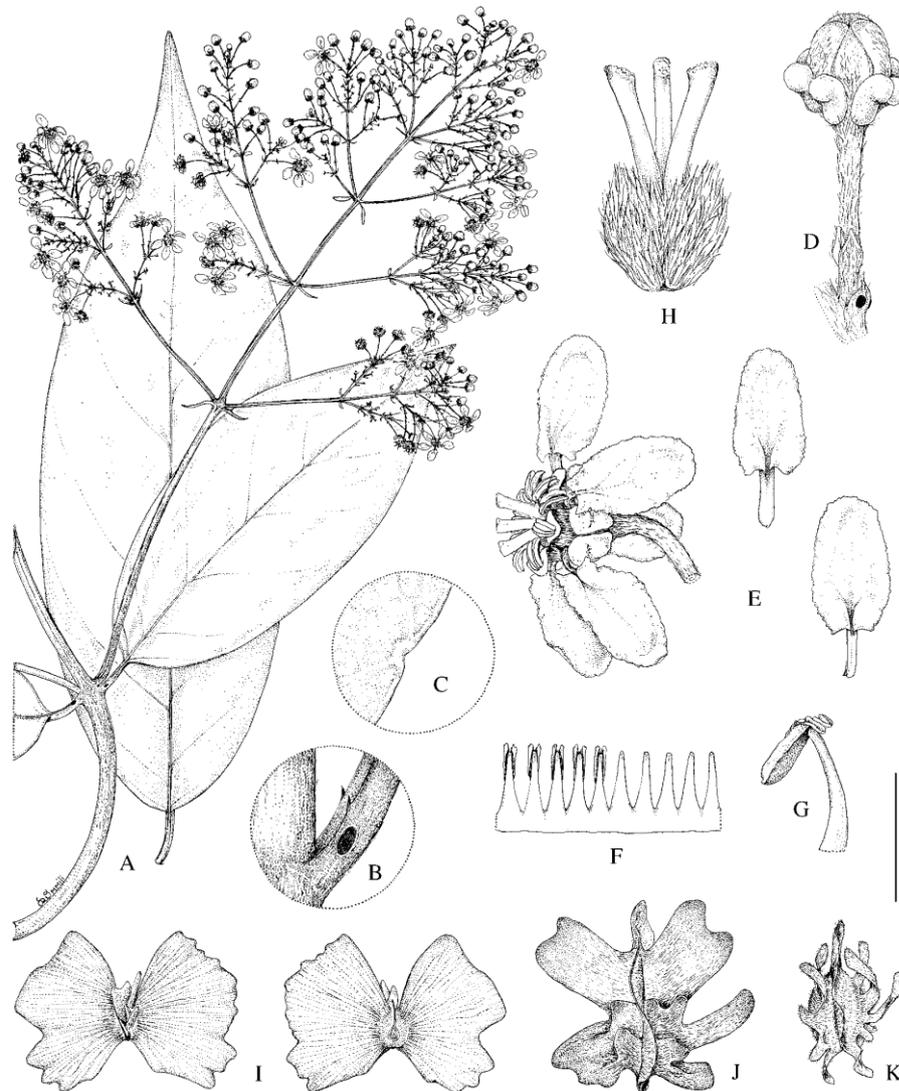


Figura 2 – *Niedenzuella stannea* (Griseb.) W. R. Anderson – A. Ramo de floração e grande folha destacada. B. Base do pecíolo mostrando grande glândula e minúsculas estípulas epipetiolares. C. Margem da lâmina (destaque para glândula embutida). D. Botão de flor. E. Flor, vista lateral, pétala superior posterior, e vista adaxial de pétala lateral (direita) e pétala posterior (acima). F. Androceu, vista adaxial com cinco anteras removidas. G. Vista lateral do estame. H. Gineceu. I. Samara normal vista abaxial (esquerda) e vista adaxial (direita). J. e K. Sâmaras mal formadas, vista abaxial. Figura adaptada de ANDERSON (2006).

O princípio tóxico da maioria das plantas da família Malpighiaceae é o monofluoracetato de sódio (MFA) (Lee et al. 2012). O MFA causa queda na produção de ATP e outros processos metabólicos dependentes de energia são bloqueados (Clarke, 1991), sendo que nos bovinos os efeitos primários ocorrem no coração, desencadeando um quadro conhecido como morte súbita (Maxie e Robinson 2007). Os sinais clínicos e o desencadeamento de mortes são acentuados com a movimentação dos animais (Becker et al. 2013, Lemos et al. 2011, Tokarnia et al. 2012).

Justificativa e objetivos

Devido à ausência de outros fatores capazes de causar “morte súbita” em bovinos nas propriedades do município de Torixoreu, existiam fortes indícios de que o consumo de *Niedenzuella stannea* seja responsável por esta enfermidade. Devido as perdas econômicas causadas por “morte súbita” em Mato Grosso bem como a inexistência de dados na literatura sobre a intoxicação por *Niedenzuella stannea*, este trabalho teve como objetivo entender melhor esta enfermidade através da investigação epidemiológica na região acometida pela doença, assim como caracterizar o quadro clínico-patológico através da reprodução experimental da intoxicação em ovinos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson, W. R. **Malpighiaceae (Malpighia family)**. In N. Smith, S. A. Mori, A. Henderson, D. W. Stevenson, And S. V. Heald [eds.], Flowering plants of the neotropics, Princeton University Press, Princeton, Nova Jersey, EUA, em associação com The New York Botanical Garden, Bronx, Nova York, EUA. p.229 – 232, 2004.
- Anderson, W.R. 2006. **Eight Segregates from the Neotropical Genus Mascagnia (Malpighiaceae)**. Novon A J. Bot. Nomencl. v.16, p.168–204.
- Becker M., Caldeira F.H.B., Carneiro F.M., Oliveira L.P., Tokarnia C.H., Riet-Correa F., Lee S.T. & Colodel E.M. 2013. **Importância da intoxicação por *Amorimia pubiflora* (Malpighiaceae) em bovinos em Mato Grosso: reprodução experimental da intoxicação em ovinos e bovinos**. Pesq. Vet. Bras. v.33(9), p.1049-1056.
- Caldas S.A., Peixoto T.C., Nogueira V.A., França, T.N., Tokarnia C.H. & Peixoto P.V. 2011. **Aborto em bovinos devido à intoxicação por *Tetrapteryx acutifolia* (Malpighiaceae)**. Pesq. Vet. Bras. v.31(9), p.737-746.
- Cameron, K. M., M. W. Chase, W. R. Anderson & H. G. Hills. 2001. **Molecular systematics of Malpighiaceae: Evidence from plastid rbcL and matK sequences**. Amer. J. Bot. v.88, p.1847–1862.
- Carvalho N.M., Alonso L.A., Cunha T.G., Ravedutti J., Barros C.S.L. & Lemos R.A.A. 2006. **Intoxicação de bovinos por *Tetraperyx multiglandulosa* (Malpighiaceae) em Mato Grosso do Sul**. Pesq. Vet. Bras. v.26(3), p.139-146.
- Clarke D.D. 1991. **Fluoroacetate and fluorocitrate: Mechanism of action**. Neurochem. Res. v.16(9), p.1055-1058.
- Gava A., Cristani J., Branco J.V., Neves D.S., Mondadori A.J. & Souza R.S. 1998. **Mortes súbitas em bovinos causadas pela ingestão de *Mascagnia* sp. (Malpighiaceae) no Estado de Santa Catarina**. Pesq. Vet. Bras. v.18(1), p.16-20.
- Lee, S.T., Cook, D., Riet-Correa F., Pfister, J.A., Anderson, W.R. Lima, F. G., Gardner, D.R. 2012. **Detection of monofluoroacetate in *Palicourea* and *Amorimia* species**. Toxicon. v.60(5), p.791–796.

Lemos R.A.A., Guimarães E.B., Carvalho N.M., Nogueira A.P.A., Santos B.S., Souza R.I.C., Cardinal S.G. & Kassab H.O. 2011. **Plant poisonings in Mato Grosso do Sul**. p.68-72. In: Riet-Correa F., Pfister J., Schild A.L. & Wierenga T. (Eds), *Poisoning by Plants, Mycotoxins, and Related Toxins*. CAB International, Wallingford, UK.

Mamede, M.C.H. *Niedenzuella*. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB101449>>. Acesso em: 15 Maio. 2015.

Maxie M.G. & Robinson W.S.F. 2007. **Cardiovascular system**, p.1-105. In: Maxie M.G. (Ed.), Jubb, Kennedy, and Palmer's *Pathology of Domestic Animals*. Vol.3. 5th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia. 737p.

Niedenzu, F. 1928. **Malpighiaceae**. Das Pfl anzenreich IV 141 : 1 – 870. Disponível em: http://plantgenera.org/volume.php?id_volume=3948&mobile=0. Acesso: 10 de agosto de 2016.

Pavarini S.P., Soares M.P., Bandarra P.M., Gomes D.C., Bandinelli M.B., Cruz C.E.F. & Driemeier D. 2011. **Mortes subitas em bovinos causadas por *Amorimia exotropa* (Malpighiaceae) no Rio Grande do Sul**. *Pesq. Vet. Bras.* v.31, p.291-296.

Schons, S. V, De Mello, T.L., Riet-Correa, F., Schild, A.L. 2011. **Poisoning by *Amorimia (Mascagnia) sepium* in sheep in northern Brazil**. *Toxicon.* v.57, p.781–786.

Silva D.M., Riet-Correa F., Medeiros R.M.T. & Oliveira O.F. 2006. **Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos no Seridó Ocidental e Oriental do Rio Grande do Norte**. *Pesq. Vet. Bras.* v.26(4), p.223-236.

Tokarnia, C.H., Peixoto, P.V., Döbereiner, J.1990. **Poisonous plants affecting heart function of cattle in Brazil**. *Pesq. Vet. Bras.* v.10, p.1–10.

Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. **Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção**. 2ª ed., Editora Helianthus, Rio de Janeiro.

1. CAPITULO I

Sudden Death associated with *Niedenzuella stannea* (Malpighiaceae) in cattle in the state of Mato Grosso, Brazil: Importance and epidemiological aspects

Flávio H. B. Caldeira¹

Geovanny B. G. Dias¹

Felipe P. de Arruda²

Valdecy de M. Lourenço²

Kalinne S. Bezerra¹

Franklin Riet-Correa³

Edson Moleta Colodel⁴

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEVZ), Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Av. Fernando Corrêa da Costa 2367, Bairro Boa Esperança, Cuiabá, MT 78068-900, Brazil

² Instituto de Defesa Agropecuária do Estado de Mato Grosso - INDEA/MT – ULE Torixoreu, MT. Rua Bela Vista, s/n – Centro, CEP. 78260-000. Torixoreu, Mato Grosso, Brazil

³ Laboratório de Anatomia Patológica, Hospital Veterinário, Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR). Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 58700-310, Paraíba, Brazil

⁴ Departamento de Clínica Médica Veterinária (CLIMEV), Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEVZ), Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT. Campus Universitário Cuiabá. Av. Fernando Corrêa da Costa, 2367. Bairro Boa Esperança. Cep. 78069-900, Cuiabá, Mato Grosso, Brazil

Sudden Death associated with *Niederzuehella stannea* (Malpighiaceae) in cattle in the State of Mato Grosso, Brazil: Importance and epidemiological aspects⁵

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the importance of an acute disease that was characterized by sudden death associated with exercise that affected cattle in the region of the Araguaia River, especially in the municipality of Torixoréu in the southeastern region of the State of Mato Grosso, Brazil. Between August and September 2013, eighty farms in the municipality were visited, and the pastures of these farms were inspected. Epidemiological questionnaires were completed from 65 farms. A plant identified as *Niederzuehella stannea* (*N. stannea*) (Malpighiaceae) was attributed to the cause of sudden death in cattle, which causes major economic losses. Sudden death reports have occurred since 1970, when livestock were introduced in the region, and sudden death reports still occur. Outbreaks were reported to occur in different months of the year, ranging from May to October and mainly during the dry season between June and August. *N. stannea* was identified at 41 properties, and it was always found in close proximity to rivers. The most effective plant control methods included plowing the pastures and fields followed by manual application of Tordon® (Picloram and 2.4D). The administration of 5 g/kg of young leaves that were collected from a farm with a sudden death history in cattle also caused sudden death in a sheep. Thus, it is concluded that the sudden death of cattle in the region of the Araguaia River is caused by the consumption of *N. stannea*.

INDEX TERMS: *Niederzuehella stannea*, toxic plants, experimental poisoning, sudden death

RESUMO

Morte súbita associada a *Niederzuehella stannea* (Malpighiaceae) em bovinos no Estado de Mato Grosso, Brasil: Importância e Investigação epidemiológica.] O objetivo deste trabalho é relatar a investigação sobre uma enfermidade de caráter agudo, caracterizada por morte súbita associada ao exercício, que acomete bovinos na região de bacias hidrográficas do Rio Araguaia, especialmente no município de Torixoréu, sudeste do estado de Mato Grosso,

Brasil. Entre agosto e setembro de 2013, foram visitadas e inspecionadas as pastagens em 80 propriedades rurais do município, e em 65 aplicado um questionário epidemiológico. Uma planta identificada como *Niederzuehlla stannea* (Malpighiaceae), é incriminada como causadora de morte súbita em bovinos gerando grandes prejuízos econômicos. Relatos de morte súbita datam desde de 1970, quando a pecuária começou a ser inserida na região, e ocorrem até os dias atuais. Surtos ocorreram em diferentes meses do ano, variando de maio a outubro, sendo a maior parte concentrada durante o período de seca, especialmente nos meses de junho a agosto. *N. stannea* foi identificada em 41 propriedades, sendo presente próxima aos leitos de rios. Os métodos de controle da planta relatados como mais eficazes foram o arar da pastagem e roça manual seguida da aplicação de Tordon® (Picloram e 2,4D). A administração para um ovino, de 5 g/kg de folhas em brotação de *N. stannea*, coletadas em uma propriedade com histórico de morte súbita em bovinos, reproduziu o quadro de morte súbita. Conclui-se que as mortes súbitas em bovinos em áreas da bacia hidrográfica do rio Araguaia se devem ao consumo de *N. stannea*.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Niederzuehlla stannea*, plantas tóxicas, intoxicação experimental, morte súbita

INTRODUCTION

Sudden death is important in livestock in Brazil because it is responsible for at least half of the cattle deaths caused by the consumption of plants in the country (Tokarnia et al. 2012). The major plants associated with this type of poisoning belong to three families: Rubiaceae, Bignoniaceae and Malpighiaceae (Tokarnia et al. 2012). In the Malpighiaceae family, *Amorimia septentrionalis* and *A. rigida* stand out as the most important toxic plants in the northeast (Tokarnia et al. 1990, 2012, Duarte et al. 2013), whereas *A. exotropa* stands out as the most important toxic plant in the south (Gava et al. 1998, Pavarini et al. 2011) and *A. sepium* in the north (Schons et al. 2011); however, considering the geographic location of the outbreaks in Brazil and photo identification, Lee et al. 2012 suggested that the species is probably *A. Amazonica*. Poisonings by *A. pubiflora* in the Midwest and Southeast have also been reported (Tokarnia and Dobereier 1973, Becker et al. 2013).

Numerous plant species that cause sudden death in livestock contain the toxic organofluorine compound monofluoroacetate (MFA) (Lee et al. 2012), which decreases the production of ATP and blocks other metabolic processes that are dependent on energy (Clarke 1991). In cattle, the primary effects occur in the heart and cause sudden death (Maxie and

Robinson 2007). In most cases, clinical signs and death are precipitated by exercise (Lemos et al. 2011; Tokarnia et al. 2012; Becker et al., 2013), but the occurrence of poisoning depends on many factors such as palatability, hunger, sprouting after the first rains, and dose and toxicity variations (Pessoa et al. 2013).

The aim of this study was to investigate the importance of an acute disease characterized by sudden death associated with exercise, which affects cattle in the region of the Araguaia River, especially in the municipality of Torixoréu in the southeastern region of the State of Mato Grosso, Brazil.

MATERIALS AND METHODS

Epidemiologic study. A descriptive observational study was conducted by selecting cattle farms located in regions with a sudden death history; these cattle farms were identified by the Office of Agricultural Protection of Mato Grosso (INDEA/MT) in the municipality of Torixoréu (16°11'58"S, 52°33'20"W), Mato Grosso (MT), Midwestern Brazil. The properties were located in the Araguaia-Tocantins River Basin on the banks of the Araguaia River and its tributaries including the Diamantino River and the main tributaries of Diamantino, Guariroba and Quebra-Dente Creeks. GPS TrackMaker software, version 13.8.517, was used to obtain the geographical coordinates of the farms after the properties bordering these rivers were selected using Google Earth™, version 7.0.8415. The properties were systematically visited to distribute the epidemiological questionnaire, inspect the pastures and mark the location using a global positioning system (GPS).

The epidemiological survey was given to the owners and employees of the farms to collect data regarding the characteristics of the properties, outbreaks of sudden death and mortality control. A modified model of forms 2 and 3 used by Silva et al. (2006) was used. Photos published by Tokarnia et al. (2012) of the main plants that cause sudden death in Brazil were shown to the interviewed subjects for possible recognition of these plants in the region.

Collection of plant samples. Samples were collected of only the species that were suggested by the interviewed subjects as causing the disease and that were found on farms where the occurrence of sudden death in cattle was frequent. Leaf, fruit and flower samples collected in November 2012 from a farm that was visited (16°18'41.38"S, 52°56'01.77"W) were sent to the University of Michigan Herbarium (Michigan, USA) for botanical identification.

Experimental poisoning. Sprouting leaf samples of a similar plant that were sent for identification were orally administered to a male sheep at a dose of 5 g/kg body weight (bw). Six hours after administration of the plant, the sheep was forced to run. After the exercise, a clinical examination was performed including monitoring of respiratory movements, behavior, posture and consumption of water and food. At the necropsy, gross lesions were recorded, and samples of the liver, kidney, heart, lung, intestine, lymph nodes, spleen and brain were collected. The samples were fixed in 10% formalin, routinely processed for histology, and stained with hematoxylin and eosin for histologic evaluation. All animal research was approved by the Ethical Committee in the Use of Experimental Animals of the Federal University of Mato Grosso (CEUA-UFMT) (protocol N° 23108016273/13-0).

RESULTS

Botanical identification

The plant that was suspected to cause sudden death in the rural area of the municipality of Torixoréu was identified as the species *Niedenzuella stannea* (Griseb.) W.R. Anderson, which belongs to the Malpighiaceae family.

Epidemiologic study

Eighty farms in the municipality of Torixoréu were visited, and all the pastures were inspected. Of these farms, people were available to answer the epidemiological questionnaire on 65 farms. Of the respondents, 40 (61.53%) were owners, 17 (26.15%) were cowherds, five (7.69%) were managers, and three (4.61%) performed general services. Of the 65 properties where interviews were performed, 33 (50.76%) reported a history of sudden death among cattle. The oldest reports date back to 1970 when livestock activity began in the region, and currently, deaths are still reported. The main clinical signs reported by the respondents had a common relationship with the movement of cattle, in which parties described the following clinical signs: rough hair coat, frequent urination, trembling, weakness, drooling, falling and dying quickly. Respondents often associated the death of the animal with the arrival at the barn (described as barn odor).

The outbreaks occurred in different months of the year, ranging from May to October and mainly during the dry season between June and August. Respondents reported that when the dry period of the year starts, the pastures and other invasive plants begin to "dry", and *N. stannea* begins to sprout in this period. This plant was described to be more visible or even the only "green" plant in the pasture. During this time, the cattle begin to

consume the plant, and mortality begins. *N. stannea* was attributed by all respondents to be responsible for causes of sudden death in cattle. Of the 33 properties with a history of sudden death, all respondents reported the occurrence of *N. stannea*. In seven of these properties, the plant has been eradicated, and recognition was confirmed by the photos. None of the plants presented in the photos, including plants in the Rubiaceae or Bignoniaceae family known to cause sudden death in cattle, were recognized by respondents or found during a survey of the pasture areas or surrounding forests.

Forms of disease control were reported in all of the properties and included plant control and control of the manifestation of the intoxication. Regarding plant control, the most effective management method, which eradicated the plant, was to plow the pastures infested with *N. stannea* (on two properties) or cutting followed by the application of Tordon® (Picloram + 2.4D) (on five properties). Some respondents claimed that manual weeding increased the occurrence of poisonings due to regrowth of the plant, which is more attractive to cattle. On properties where the plant was not controlled, some owners prevented animal access to the plants by surrounding these areas (i.e., fencing). Owners often reported that when they needed to use the area with *N. stannea* present, they put the calves (weanlings) in these areas because the mortality of young animals would cause less economic damage.

The control of the manifestation of intoxication was focused on management practices. As the clinical signs mostly occurred after the movement of cattle, constant handling was avoided, except for obligatory vaccinations. However, this management method creates access to pastures that contain *N. stannea* during free pasture; the cattle arrive in the free pastures and remain there for a period of five to 15 days. After this time, management practices are performed.

The mortality related to the consumption of *N. stannea* reported by the respondents showed variation with rates of 0.2% to 8% of the herd each year. In addition, some animals recovered, but there were no precise rates of morbidity. This research reported that at least 573 cattle and one buffalo died based on the presentation of sudden death in the last 43 years and on the different properties.

Inspection of pastures

Inspection of the pastures was performed on 80 properties in the city of Torixoréu, Mato Grosso. The aim of the inspection was to identify known toxic plants that cause sudden death and the presence of the plant that respondents termed "Erva". This "Erva" plant was identified on 41 properties in the region (Fig.1) and it was exclusively present on properties

that border the main rivers of the municipality, namely, the Guariroba, Quebra-Dente, Diamantino and Araguaia Rivers (Fig.2). The plant was observed to infest areas next to the banks of rivers and close to riparian forests, and it was also found in areas of dense forest but in areas no more than 500 meters from the riverbanks. The respondents described that the plant can only be developed where the land is more favorable for agriculture. This visit occurred during the month of August, and there was abundant flowering and fruiting of the species incriminated by respondents as responsible for causing sudden death in cattle. No case of spontaneous poisoning was observed during the visits. *Palicourea marcgravii*, *Amorimia pubiflora* or other plant species known to cause sudden death in livestock were not observed during these surveys and were not mentioned during the questioning.

Experimental poisoning

For the experimental poisoning, six hours after the administration of 5 g/kg bw of leaves, the sheep was forced to run for two minutes, and the following clinical signs were noted: muscle spasm, paddling movements, tachycardia, engorgement of the jugular, positive venous pulse, opisthotonos and nystagmus. The sheep died within five minutes after the fall. A necropsy was performed and revealed a diffusely congested lung and the presence of foam in the trachea. Engorgement of the cranial vena cava and petechiae in the pericardium were also observed. No significant microscopic changes were observed.

DISCUSSION AND CONCLUSIONS

In Brazil, *N. stannea* is found in the Amazon and Pantanal regions and has a geographical distribution in the states of Pará, Mato Grosso and Mato Grosso do Sul (Mamede, 2014). The genus *Niedenzuella*, previously classified in the genus *Mascagnia* and *Tetrapteryx*, presents morphological characteristics similar to the other species of Malpighiaceae (Anderson, 2006). Although many Malpighiaceae species are known to be toxic to cattle, there are no previous reports in the literature indicating poisoning by *N. stannea*.

This epidemiological survey showed that the plant popularly called "Erva", which was identified as *Niedenzuella stannea*, is the cause of sudden death in cattle in the city of Torixoréu, MT. Evidence showed that mortality was present only in pastures where *N. stannea* was found. Reductions of mortality occurred with plant control, and sudden death cases ceased when the plant was eradicated. Additionally, in this study, sudden death was reproduced with the administration of *N. stannea* to a sheep. In addition to these factors, other

plants that cause sudden death, such as *Palicourea marcgravii* (Tokarnia and Dobereiner, 1986) and *Amorimia pubiflora* (Becker et al., 2013), which cause poisoning in the Midwest Region of Brazil, were not found during the inspection of the pastures. Using photo identification, none of the respondents recognized *Palicourea marcgravii*, but *Amorimia* spp. was often identified as "Erva", which may have been due to the morphological similarity between the plants (Anderson, 2006).

Poisoning by *N. stannea* was most often related to bovine species. The most visited properties had horses that grazed in common areas more than cattle, but there was no record of sudden death or other evidence indicating intoxication in horses. One property reported an occurrence of sudden death in a buffalo that grazed in the pastures with *N. stannea*. Reports of sudden death in buffaloes associated with plant consumption are infrequent. Barbosa et al. (2003) reported that this species is up to six times more resistant to poisoning by *Palicourea marcgravii*.

The infestation by *N. stannea* in the pastures was found close to the riverbanks including riparian forests. This plant was also found in distant and dense forest areas, but it was limited to a distance of less than 500 meters from the riverbanks. Respondents reported that the plant grows only where the land is more favorable for agriculture. These features have also been described in other Malpighiaceae, such as *Amorimia pubiflora*, which inhabits fertile soils, and *A. rigida* and *A. Amazonica*, which grow in areas close to rivers (Schons et al. 2011, Tokarnia et al. 2012).

Difficulty in controlling and eradicating some species of Malpighiaceae such as *A. pubiflora* (Becker et al. 2013), *A. rigida* and *A. septentrionalis* is a common characteristic of these plants (Albuquerque et al. 2014; Tokarnia et al. 2012), which may be related to the fact that they have a deep root system that facilitates regrowth. The economic impact of the control of this disease related to the consumption of *N. stannea* cannot be calculated as there is no accurate information on the cost to reform pastures, of labor and the purchase of pesticides. Generally, the owners complained about the high costs of this control. Among the most effective poisoning control measures reported by respondents were soil plowing and manual cutting followed by application of a product that contains picloram 2.4 D., but the economic costs of this method can inhibit its practice, especially in large areas and in areas with high infestation. The report indicates that the majority of owners used, due to costs, techniques that control the manifestation of clinical poisoning such as proper handling of the animals and resting in an area free of *N. stannea*. Some people reported that they prefer to let younger cattle graze in pastures infested by the plant because it reduces the economic impact

of mortality. Manual cutting that is used to control the infestation has proven inefficient due to the occurrence of more intensified regrowth.

The death of 573 cattle was used to calculate the direct costs of mortality by *N. stannea* poisoning. Considering an average body weight of 300 kg at \$2.40 per kg (IMEA 2015), the cost attributed to the death of cattle by poisoning on these properties where interviews occurred would equate to \$412,560. However, this number is clearly underestimated as this information was obtained from people currently on the property during the interview and excluded data from previous owners or employees. For a better understanding of poisoning by *N. stannea*, experimental studies must be conducted to analyze the clinical and pathological effects and the technical and economic viability of control methods for this plant.

Acknowledgements.- The authors are grateful to Dr. William R. Anderson, University of Michigan Ervaarium, Ann Arbor, Michigan, EUA, for botanic identification and to Mato Grosso State Research (FAPEMAT-Proc. nº 156883/2014) and the National Institute of Science and Technology for the Control of Plant poisonings (INCT/CNPq) for financial support.

REFERENCES

- Albuquerque, S.S.C., Rocha, B.P., Almeida, V.M. 2014. Fibrose cardíaca associada à intoxicação por *Amorimia septentrionalis* em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 34(5):433-437.
- Anderson W.R. 2006. Eight segregates from the neotropical genus *Mascagnia* (Malpighiaceae). *Novon.* 16:168-204.
- Barbosa, J. D., Oliveira, C. M. C., Tokarnia, C. H., Riet-Correa, F. 2003. Comparação da sensibilidade de bovinos e búfalos à intoxicação por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae). *Pesq. Vet. Bras.* 23(4):167-172.
- Becker M., Caldeira F.H.B., Carneiro F.M., Oliveira L.P., Tokarnia C.H., Riet-Correa F., Lee S.T. & Colodel E.M. 2013. Importância da intoxicação por *Amorimia pubiflora* (Malpighiaceae) em bovinos em Mato Grosso: reprodução experimental da intoxicação em ovinos e bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 33(9):1049-1056.
- Clarke D.D. 1991. Fluoroacetate and fluorocitrate: Mechanism of action. *Neurochem. Res.* 16(9):1055-1058

- Duarte A.L., Medeiros R.M.T. & Riet-Correa F. 2013. Intoxicação por *Amorimia* spp. em ruminantes. *Ciência Rural* 43(7):1294-1301.
- Gava A., Cristani J., Branco J.V., Neves D.S., Mondadori A.J. & Souza R.S. 1998. Mortes súbitas em bovinos causadas pela ingestão de *Mascagnia* sp. (Malpigiaceae) no Estado de Santa Catarina. *Pesq. Vet. Bras.* 18(1):16-20.
- IMEA 2015. Instituto Mato-grossense de Economia Agropecuária: Cuiabá-MT. <<http://www.imea.com.br/cotacoes.php?produto=4&subproduto=21>> Accessed August 2015.
- Lee S.T., Cook D., Riet-Correa F., Pfister J.A., Anderson W.R., Lima F.G. & Gardner D.R. 2012. Detection of monofluoroacetato in *Palicourea* and *Amorimia* species. *Toxicon* 60:791-796.
- Lemos R.A.A., Guimarães E.B., Carvalho N.M., Nogueira A.P.A., Santos B.S., Souza R.I.C., Cardinal S.G. & Kassab H.O. 2011. Plant poisonings in Mato Grosso do Sul, p.68-72. In: Riet-Correa F., Pfister J., Schild A.L. & Wierenga T. (Eds), *Poisoning by Plants, Mycotoxins, and Related Toxins*. CAB International, Wallingford, UK.
- Mamede, M.C.H. 2014. *Niedenzuella* in: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB101449>> Accessed May 2014.
- Maxie M.G. & Robinson W.S.F. 2007. Cardiovascular system, p.1-105. In: Maxie M.G. (Ed.), Jubb, Kennedy, and Palmer's *Pathology of Domestic Animals*. Vol.3. 5th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia. 737p.
- Pavarini S.P., Soares M.P., Bandarra P.M., Gomes D.C., Bandinelli M.B., Cruz C.E.F. & Driemeier D. 2011. Mortes subitas em bovinos causadas por *Amorimia exotropa* (Malpighiaceae) no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 31:291-296
- Pessoa C.R.M., Medeiros R.M.T. & Riet-Correa F. 2013. Importância econômica, epidemiologia e controle das intoxicações por plantas no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 33(6):752-758
- Schons S.V., Mello T.L., Riet-Correa F. & Schild AL. 2011. Poisoning by *Amorimia (Mascagnia) septium* in sheep in northern Brazil. *Toxicon* 57:781-786.
- Silva, D.M.;Riet-Correa, F. Medeiros R.M.T. & Oliveira, O.F. 2006. Plantas tóxicas para ruminantes no Seridó Ocidental e Oriental do Rio Grande do Norte. *Pesq. Vet. Bras.* 26:223-236.
- Tokarnia, C.H. & Döbereiner, J. 1973. Intoxicação por *Mascagnia pubiflora* em bovinos no Estado do Mato Grosso. *Pesq. Agrop. Bras.* 8:61-68.

Tokarnia, C.H. & Döbereiner, J. 1986. Intoxicação por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em bovinos no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 6:73-92.

Tokarnia, C.H., Peixoto, P.V. & Döbereiner, J. 1990. Poisonous plants affecting heart function of cattle in Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 10:1-10.

Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. *Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção*. 2ª ed., Editora Helianthus, Rio de Janeiro.

Figure



Fig. 1. Independence Farm. Torixoréu – Mato Grosso. (A) Green *N. stannea* in a pasture of dry *Brachiaria* spp. (B) Bovine consuming leaves of *N. stannea* in August 2013. (C) Sprouts of *N. stannea*. (D) Flowers and fruits of *N. stannea*.

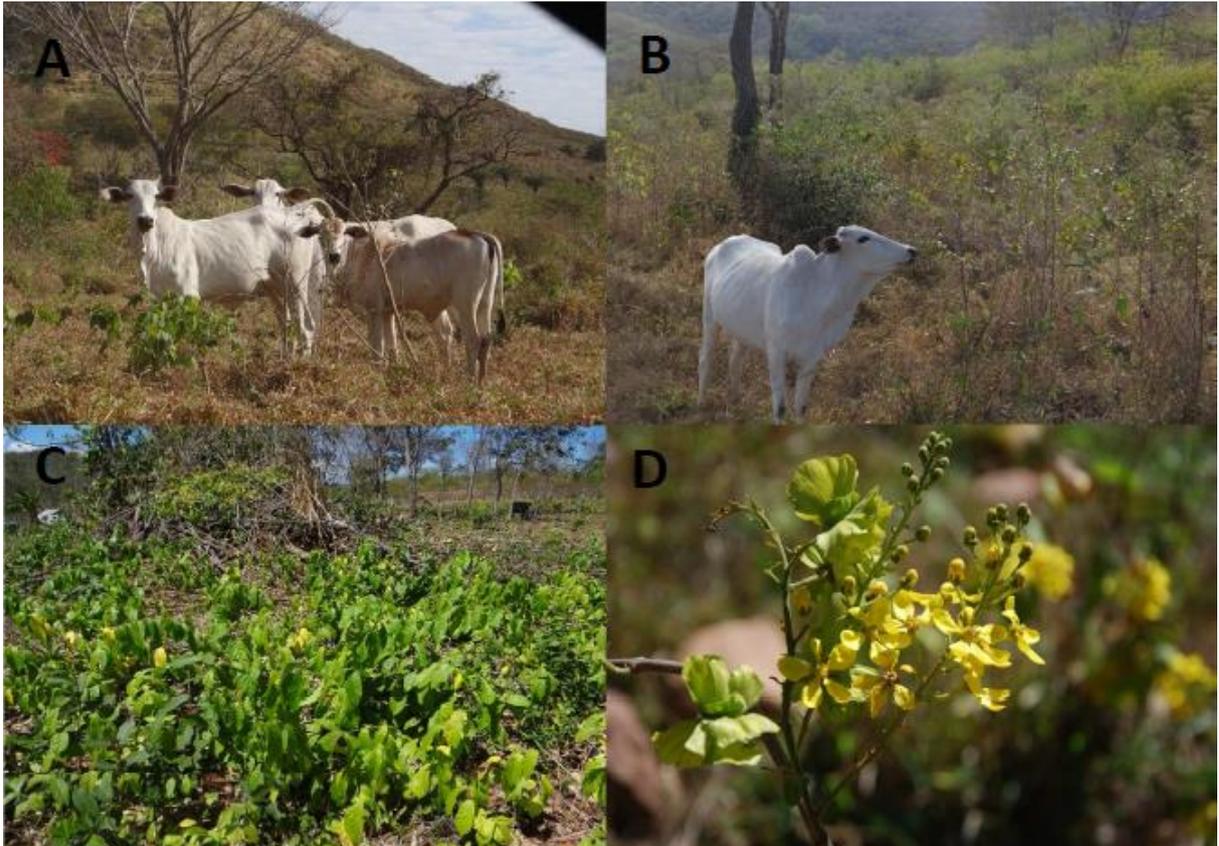


Fig. 2. Bacuri Farm. Torixoréu – Mato Grosso. The demarcated area near the Quebra-Dente River (circled in red) was infested by *N. stannea* up to 307 meters from the river bank.

2. CAPITULO II

Intoxicação experimental por *Niedenzuella stannea* (Malpighiaceae) em ovinos

Flávio H. B. Caldeira¹

Felipe P. de Arruda¹

Diego M. Shenkel¹

Clairton Marcolongo-Pereira²

Stephen T. Lee³

Daniel Cook³

Franklin Riet-Correa⁴

Edson Moleta Colodel⁵

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Faculdade de Medicina Veterinária (FAVET), Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Av. Fernando Corrêa da Costa 2367, Bairro Boa Esperança, Cuiabá, MT 78068-900, Brazil

² Faculdade de Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências da Saúde, UniRitter – Laureate International Universities.

³ Poisonous Plant Research Laboratory, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, Logan, UT, United States

⁴ Laboratório de Anatomia Patológica, Hospital Veterinário, Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR). Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 58700-310, Paraíba, Brazil

⁵ Departamento de Clínica Médica Veterinária (CLIMEV), Faculdade de Medicina Veterinária (FAVET), Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT. Campus Universitário Cuiabá. Av. Fernando Corrêa da Costa, 2367. Bairro Boa Esperança. Cep. 78069-900, Cuiabá, Mato Grosso, Brazil

Intoxicação experimental por *Niederzuehella stannea* (Malpighiaceae) em ovinos

ABSTRACT

Niederzuehella stannea is a sodium monofluoroacetate-containing plant that is incriminated to cause sudden death in cattle in southern Mato Grosso State. This study describes the toxicity and clinical and pathological findings of experimental poisoning by *N. stannea* in sheep. Fruits, mature leaves and young leaves of the plant that was collected in properties near the margins of the Araguaia river basins with history of sudden death in cattle were used in the experiment. No clinical signs were observed in sheep ingesting doses between 10 and 40g/kg of mature leaves and 10g/kg of fruits. The animals showed clinical signs when received young leaves of the plant orally in a single dose of 5, 10, 20g/kg, and death occurred in sheep that received 30g/kg. The plant at the dose of 30g/kg of fresh leaves maintained its toxicity after being dried. The main clinical signs observed were anorexia, lethargy, dyspnea, tachycardia, and arrhythmia with a clinical course ranging from 16h to 20h after the onset of clinical signs. In an hyperacute terminal phase the animals showed reluctance to move, frequent urination, engorged jugular, evident venous pulse, muscle tremor, sternal recumbence, lateral decubitus, and death. At necropsy engorgement of the atrium and large veins of the heart, and pulmonary edema were observed. Microscopically, the kidney had hydropic-vacuolar degeneration in the cytoplasm of the epithelial cells of the distal convoluted tubules. It is concluded that young leaves of *N. stannea* can cause intoxication in sheep and should be considered in the differential diagnosis in acute diseases in sheep in Mato Grosso.

INDEX TERMS: *Niederzuehella stannea*, toxic plants, sudden death, sodium monofluoroacetate

RESUMO

Niederzuehella stannea contém monofluoroacetato de sódio e é incriminada como causa de morte súbita em bovinos na Região Sul do Estado de Mato Grosso. Este estudo descreve a toxidez e achados clínicos e patológicos da intoxicação experimental por *N. stannea* em ovinos. Foram utilizados no experimento, frutos, folhas maduras e folhas jovens de *N. stannea* coletadas em propriedades as margens de afluentes das bacias hidrográficas do Rio Araguaia onde havia histórico de morte súbita em bovinos. Folhas maduras em doses entre 10 e 40g/kg e frutos na dose de 10 g/kg não causaram alterações clínicas. Alterações clínicas

foram observadas em ovinos que receberam a partir de 5g/kg de folhas jovens em dose única e a morte ocorreu nos que receberam a partir de 30g/kg. A toxicidade na dose de 30g/kg se manteve após a secagem da planta. Os principais sinais clínicos foram anorexia, apatia, dispneia, arritmia e taquicardia em evolução clínica que variou de 16 às 20h. Notou-se em uma fase terminal hiperaguda, com evolução de 13 a 20 min., relutância ao movimento, micção frequente, jugular ingurgitada, pulso venoso evidente, tremor muscular, decúbito esternal e decúbito lateral e morte. Na necropsia os principais achados foram ingurgitamento de grandes veias, da aurícula do coração e edema pulmonar. Microscopicamente a principal alteração ocorreu no rim é caracterizou-se por degeneração hidrópico-vacuolar no citoplasma de epitélio de túbulos contorcidos distais. Conclui-se que *N. stannea* na fase de brotação é tóxica para ovinos e que a intoxicação por esta planta deve ser incluída no diagnóstico diferencial das doenças com curso clínico hiperagudo em ovinos no Mato Grosso.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Niedenzuella stannea*, plantas tóxicas, monofluoracetato de sódio, morte súbita.

INTRODUÇÃO

Niedenzuella stannea (Griseb.) W.R. Anderson, pertencente à família Malpighiaceae, é encontrada no Brasil nas regiões Amazônica e do Pantanal, nos Estados do Pará, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (Mamede, 2014). O gênero *Niedenzuella* é composto por plantas anteriormente classificadas nos gêneros *Amorimia* ou *Tetrapteryx* (Malpighiaceae) por características morfológicas (Anderson, 2006). Várias espécies dessas famílias são conhecidamente tóxicas para animais de produção (Tokarnia et al. 2012). As plantas do gênero *Amorimia* que causam intoxicações contêm monofluoroacetato de sódio e causam morte súbita associada ao exercício (Lee et al. 2012); enquanto que o consumo de *Tetrapteryx* spp. causa fibrose cardíaca, aborto e espongiose do sistema nervoso central e seu princípio ativo é desconhecido (Tokarnia et al. 2012).

Niedenzuella stannea, que contém monofluoracetato de sódio (Arruda et al, 2016), causa morte súbita associada ao exercício em bovinos no Estado de Mato Grosso, sendo que a intoxicação ocorre, com maior frequência, pelo consumo da brotação no período de seca (Caldeira et al. 2016). O objetivo deste trabalho é determinar a toxicidade e o quadro clínico-patológico induzido pelo consumo de *N. stannea* em diferentes fases de crescimento utilizando o ovino como modelo experimental.

MATERIAL E METODOS

Para a reprodução experimental da doença foram utilizados 11 ovinos provenientes de propriedades com pastagens conhecidamente livres de *N. stannea* ou outra planta que cause morte súbita. Previamente os ovinos foram tratados com anti-helmíntico (doramectina 1%) e passaram por exame clínico geral. Os ovinos foram mantidos em baias individuais com 2,16 m², alimentados com silagem de milho e ração comercial com acesso ininterrupto à água.

Niedenzuella stannea (Grisebach) W.R. Anderson foi coletada próximo a margem de um de rios das bacias hidrográficas do Rio Araguaia, em uma propriedade com histórico de morte súbita em bovinos (S 16°18'58,6''; W 52°56'02,1''). Uma amostra da espécie (Acesso # 1514056, Michigan) foi coletada, prensada, seca, e enviada para o professor William R. Anderson, do herbário da Universidade de Michigan, Ann Arbor, Michigan, Estados Unidos, para identificação taxonômica. Dois estágios vegetativos de folhas de *N. stannea* foram coletados. Em agosto de 2013 coletaram-se folhas maduras, de arbustos de *N. stannea*, que se apresentavam fibrosas e com limbo verde-escuro (Fig.1), e em julho de 2014 foram coletadas folhas jovens, de brotações de *N. stannea*, que se apresentavam tenras e com limbo verde-claro (Fig.2). Foram, também, coletados frutos de *N. stannea* em junho de 2014.

As doses administradas por via oral de *N. stannea* foram de 5, 10, 20 e 30 g/kg de folhas jovens e 5, 10, 20 e 40 g/kg de folhas maduras e 10 g/kg de frutos. Para verificar a toxidez de folhas secas foi administrada a um ovino a dose de 30 g/kg de folhas de *N. stannea* que foram pesadas frescas, e posteriormente dessecadas, em duas etapas. Primeiramente à sombra e à temperatura controlada de 14° C por 24 horas e depois em estufa de ventilação a temperatura de 55° C por mais 24 horas conforme protocolo utilizado por Schons et al., 2011. As doses foram calculadas com base no peso verde das folhas, posteriormente estas foram trituradas, misturada em 1 L de água e administrada por sonda esofágica. As doses e as repetições estão descritas no Quadro 1.

Aproximadamente cinco horas após a administração os ovinos eram movimentados por 10 minutos ou até apresentarem fadiga recusando-se a movimentar. Previamente e logo após o exercício aferiu-se as frequências respiratória e cardíaca dos ovinos. Os ovinos que se recuperaram ou que não apresentaram sinais clínicos tiveram acompanhamento com aferição dos parâmetros clínicos por pelo menos 24 h e acompanhamento visual por até sete dias. Os ovinos que morreram foram imediatamente necropsiados e fragmentos de todos os órgãos, incluindo o sistema nervoso central, foram fixados em formalina 10% e processados rotineiramente para análise histológica. O experimento foi realizado com aprovação do

Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Mato Grosso (protocolo N° 23108016273/12-0).

RESULTADOS

Os achados clínicos relativos à administração de folhas e frutos de *N. stannea*, estão apresentados no Quadro 1. A dose de 10g/kg de frutos e doses únicas de 5, 10, 20 e 40 g/kg de folhas maduras não causaram alteração clínica significativa nos ovinos deste experimento. Em relação administração de folhas jovens, a dose de 5g/kg (Ovino 1) causou sinais clínicos leves e recuperação clínica com aumento da frequência cardíaca (91bpm) notada logo após a movimentação, 5 horas após a administração de *N. stannea*. A dose de 30 g/kg causou sinais clínicos acentuados e morte dos Ovinos 4, 5 e 6. A evolução clínica variou de 16 a 20 horas nos que consumiram folhas frescas (Ovinos 4 e 5), e 4h20min para o que recebeu folhas dessecadas (Ovino 6). Os principais sinais clínicos observados foram anorexia, apatia, dispneia, taquicardia, arritmia, relutância ao movimento, micção frequente, jugular ingurgitada, evidenciação de pulso venoso e tremores musculares leves a moderado. Os ovinos manifestaram, ainda, uma fase hiperaguda, notada entre 13 e 20 minutos antes da morte e que se caracterizava por frequência cardíaca acima de 200bpm, tremores musculares intensos, relutância à movimentação, dificuldade de se manter em estação, quedas ou decúbito esternal, decúbito lateral e morte.

As principais alterações macroscópicas observadas nos Ovinos 4, 5 e 6 foram ingurgitamento de aurículas e das veias cava cranial, das veias jugulares e das veias pulmonares. Nos pulmões havia equimoses e sufusões na superfície do órgão, acompanhando o padrão do gradil costal (Fig.3) nos Ovinos 4 e 5. O órgão estava distendido contendo conteúdo líquido seroso (edema), além de áreas multifocais com enfisema. A pleura visceral estava vermelho-escura e brilhosa. No coração havia equimoses epicárdicas no ventrículo esquerdo próximo ao sulco interventricular (Ovino 4). Foi observada, também, grande quantidade de espuma brancacenta na traqueia (Fig.3). Microscopicamente, havia no rim desses ovinos degeneração hidrópica dos túbulos contorcidos distais com variação de intensidade, sendo considerada moderada no Ovino 4 e leve nos Ovinos 5 e 6. Havia, ainda, edema e congestão difusa acentuada no pulmão em todos os ovinos e hemorragias focalmente extensas no pulmão e coração no Ovino 4. Nos demais órgãos não se observaram alterações microscópicas significativas.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Foi possível determinar que folhas jovens e frescas de *N. stannea* causam a morte de ovinos, na dose de 30g/Kg e que a planta não perde a toxicidade após a secagem. Apesar de intoxicações espontâneas ainda não terem sido descritas nessa espécie, *N. stannea* é uma importante causa de morte súbita associada ao exercício em bovinos no Estado do Mato Grosso (Caldeira et al. 2016). Esta planta deve ser considerada, como diagnóstico diferencial, nas regiões Amazônicas e do Pantanal, de intoxicações por outras plantas que cursam com morte súbita, principalmente em áreas de ocorrência de *Palicourea marcgravii* (Tokarnia et al. 1986), *Amorimia pubiflora* (Tokarnia et al. 1973, Becker et al. 2013) e *Amorimia amazonica* (Schons et al. 2011)

O quadro de morte súbita em ovinos intoxicados experimentalmente por plantas como *Palicourea marcgravii* (Tokarnia e Dobereiner, 1986) e *Amorimia pubiflora* (Becker et al. 2013) estão relacionados a presença de monofluoracetato de sódio (MFA) nessas plantas (Schultz et al. 1982). O MFA bloqueia competitivamente a aconitase e o ciclo de Krebs, o que reduz a produção de ATP, diminuindo o suprimento energético dos tecidos, principalmente do coração (Nogueira et al. 2011). Arruda e colaboradores (2016) detectaram a presença de 0,003% de MFA nas folhas jovens de *N. stannea*. A presença do MFA na planta provavelmente foi o responsável pelo desenvolvimento das alterações clínico-patológicas observadas. O quadro clínico foi reproduzido com administração de folhas coletadas de brotos de *N. stannea* na fase de desenvolvimento vegetativo da planta. Tem sido mencionado que a intoxicação dos animais está associada ao consumo da planta em brotação, principalmente nos períodos de seca da região Centro-Oeste do Brasil ou correlacionado ao rebrote após a roça manual em pastagens infestadas por *N. stannea* (Caldeira et al., 2016).

Não foram observadas alterações clínicas e patológicas em ovinos que receberam folhas maduras de *N. stannea* nas doses de 5 a 40g/Kg e frutos na dose de 10 g/kg. Provavelmente, a ausência dos sinais clínicos está relacionada a não detecção de MFA nas folhas maduras da planta (Arruda et al. 2016), evidenciando a importância da presença desse composto químico como causa do quadro clínico e patológico da intoxicação.

Os sinais clínicos observados em estudos experimentais com plantas da família Malpighiaceae que causam morte súbita são taquicardia e dificuldade respiratória e uma fase terminal, associada ao exercício. Nesta fase observa-se perda de equilíbrio, ataxia, tremores musculares, queda, decúbito lateral, movimentos de pedagem, opistótono e morte em poucos minutos (Tokarnia e Döbereiner 1973, 1986, Tokarnia et al. 1985, 1994, Gava et al.

1998, Becker et al. 2013). Neste estudo todos os ovinos que receberam doses únicas de 30g/kg de *N. stannea* demonstraram sinais clínicos característicos de insuficiência cardíaca aguda e morte súbita, similares aos descritos em outros estudos experimentais com plantas que contém MFA (Tokarnia et al.,2012), incluindo os relatos nas intoxicações espontâneas por *N. stannea* em bovinos (Caldeira et al., 2016).

As alterações histológicas de degeneração hidrópica observadas nesse estudo são um achado frequente em animais intoxicados natural ou experimentalmente por plantas que contém MFA (Nogueira et al. 2010, Tokarnia et al. 2012) Nogueira e colaboradores (2010) sugerem que existe uma relação entre o tempo de evolução dos sinais clínicos e a ocorrência da lesão renal. Em bovinos intoxicados com *Palicourea marcgravii* a intensidade da lesão renal foi maior quando o tempo decorrido entre a administração da planta e a morte era superior a 12 horas (Tokarnia e Dobereiner, 1986). Neste estudo a evolução clínica variou de 4h e 20h, tempo suficiente para o estabelecimento da degeneração hidrópica. Conclui-se que *N. stannea* na fase de brotação é tóxica para ovinos e que a intoxicação por esta planta deve ser incluída no diagnóstico diferencial das doenças com curso clínico hiperagudo em ovinos no Mato Grosso.

Agradecimentos.

Os autores agradecem ao Dr. William R. Anderson (University of Michigan Herbarium, Ann Arbor, Michigan, EUA) pela classificação botânica. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT-Proc. nº 156883/2014) ao INCT para o Controle das Intoxicações por Plantas/CNPq (Proc. nº 573534/2008-0) pelo apoio Financeiro.

REFERÊNCIAS

- Anderson W.R. 2006. Eight segregates from the neotropical genus *Mascagnia* (Malpighiaceae). *Novon*. 16:168-204.
- Arruda F. P. 2016. Intoxicação experimental por *Niedenzuella stannea* (Malpighiaceae) em bovinos e correspondente detecção de monofluoroacetato. 2016. 31 f. Dissertação. Faculdade de Medicina Veterinária (FAVET). Universidade Federal de Mato Grosso.
- Becker M., Caldeira F.H.B., Carneiro F.M., Oliveira L.P., Tokarnia C.H., Riet-Correa F., Lee S.T. & Colodel E.M. 2013. Importância da intoxicação por *Amorimia pubiflora* (Malpighiaceae) em bovinos em Mato Grosso: reprodução experimental da intoxicação em ovinos e bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 33(9):1049-1056.
- Caldeira F.B., Dias, G.B., Arruda F.P., Lourenço, F.M., Bezerra, K.S., Riet-Correa F., Colodel, E.M. 2016. Sudden Death associated with *Niedenzuella stannea* (Malpighiaceae) in cattle in the State of Mato Grosso, Brazil: Importance and epidemiological aspects. *Pesq. Vet. Bras.* 00(0): 00-00 (No prelo).
- Gava A., Cristani J., Branco J.V., Neves D.S., Mondadori A.J. & Souza R.S. 1998. Mortes súbitas em bovinos causadas pela ingestão de *Mascagnia* sp. (Malpighiaceae) no Estado de Santa Catarina. *Pesq. Vet. Bras.* 18(1):16-20.
- Lee S.T., Cook D., Riet-Correa F., Pfister J.A., Anderson W.R., Lima F.G. & Gardner D.R. 2012. Detection of monofluoroacetato in *Palicourea* and *Amorimia* species. *Toxicon* 60:791-796.
- Mamede M.C.H. 2014. *Niedenzuella* in: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB101449>>. Acesso em: 15 Mai. 2014.
- Nogueira V.A., França T.N., Peixoto T.C., Caldas S.A., Armien A.G., Peixoto P.V., 2010. Intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em bovinos: aspectos clínicos e patológicos. *Pesq. Vet. Bras.* 30 (7), 533–540.
- Schons S.V., Mello T.L., Riet-Correa F. & Schild AL. 2011. Poisoning by *Amorimia* (*Mascagnia*) *septium* in sheep in northern Brazil. *Toxicon* 57:781-786.

Schultz R.A., Coetzer J.A.W., Kellerman T.S. & Naudé T.W. 1982. Observations on the clinical, cardiac and histopathological effects of fluoracetate in sheep. Onderstepoort. J. Vet. Res. 49:237-245.

Tokarnia C.H., Döbereiner J. 1973. Intoxicação por *Mascagnia pubiflora* em bovinos no Estado do Mato Grosso. Pesq. Agrop. Bras. 8:61-68.

Tokarnia C.H., Döbereiner J. 1986. Intoxicação por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em bovinos no Brasil. Pesq. Vet. Bras. 6: 73-92.

Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção. 2ª ed., Editora Helianthus, Rio de Janeiro.

FIGURAS



Fig.1 – *Niedenzuella stannea*, julho/2014. Torixoréu – MT. Área de intensa brotação de *N. stannea*. Em detalhe, observam-se as folhas com limbo verde-claro.



Fig.2- Arbusto de *Niedenzuella stannea*, Agosto/2013. Torixoreu-MT. **(A)** Inflorescência. **(B)** Frutificação. **(C)** Folhas maduras fibrosas e com limbo verde-escuro.

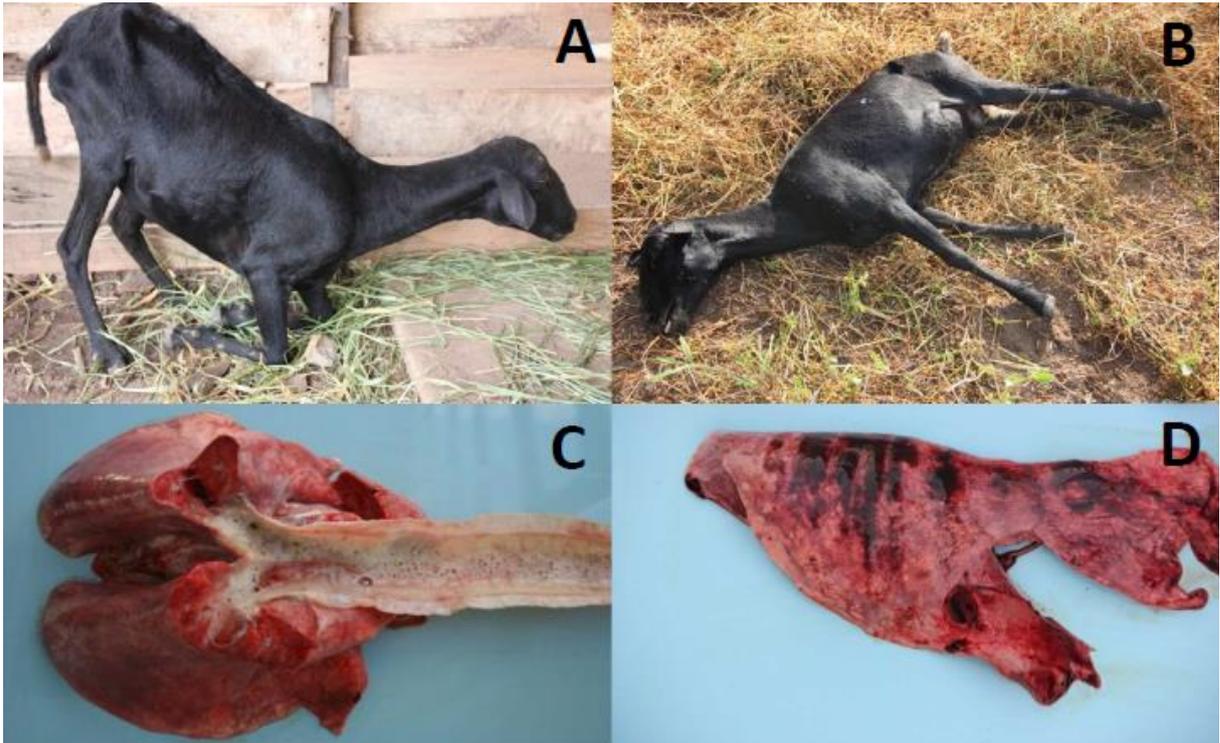


Fig.3 – Intoxicação experimental por *Niedenzuella stannea* em ovinos. Ovino 4. (A) Relutância em se movimentar após 5 min de movimentação. (B) Decúbito lateral, após movimentação por 10 min, durante a evolução hiperaguda. Apresentou taquicardia (240bpm), dispneia, movimentos de pedalagem, morrendo após 13 min. (C) Grande quantidade de espuma brancacenta na traqueia e congestão difusa no pulmão. (D) Equimoses e sufusões na superfície do pulmão, acompanhando o padrão do gradil costal.

Quadro 1. Intoxicação experimental por *Niedenzuella stannea* (Malpighiaceae) em ovinos: quadro clínico, evolução e desfecho.

Ovino	Conteúdo administrado	Dose (g/Kg)	Início sinais clínicos ^d	Evolução clínica	Duração da fase superaguda	Frequência Cardíaca (bpm) ^a			Frequência Respiratória (mrpm)	Desfecho clínico ^b	Sinais clínicos ^c
						T0	T1	T2			
1	Folhas jovens	5	11 horas	5 horas	-	88	91	-	-	R	5
2	Folhas jovens	10	-	-	-	56	-	-	-	NA ^f	SA ^g
3	Folhas jovens	20	-	-	-	84	-	-	-	NA	SA
4	Folhas jovens	30	6h07min	20h09min	13 min	64	192	240	44	M	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12
5	Folhas jovens	30	5h00min	16h20min	20min	66	171	230	48	M	2,3,4,5,6,7,8,9,10 11,12
6	Folhas jovens dessecadas	30 ^e	5h00min	4h29min	20min	91	212	248	68	M	2,4,5,6,7,8,9,10,11,12
7	Frutos	10	-	-	-	60	-	-	-	NA	SA
8	Folhas maduras	5	-	-	-	64	-	-	-	NA	SA
9	Folhas maduras	10	-	-	-	88	-	-	-	NA	SA
10	Folhas maduras	20	-	-	-	68	-	-	-	NA	SA
11	Folhas maduras	40	-	-	-	66	-	-	-	NA	SA

a. Frequência cardíaca após movimentação. T0 = antes da administração da planta, T1 = durante a evolução clínica, T2 = na evolução superaguda.

b. M = morte, R = recuperação

c. 1 = anorexia, 2 = apatia, 3 = dispneia, 4 = taquicardia, 5 = arritmia, 6 = relutância ao movimento, 7 = micção frequente, 8 = jugular ingurgitada, 9 = pulso venoso positivo, 10 = tremor muscular, 11 = decúbito esternal, 12 = decúbito lateral.

d. Após administração de folhas e frutos de *N. stannea*.

e. Dose correspondente a 30 g/kg de folha verde.

f. NA = Não adoeceu

g. SA = Sem alterações