



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS - PPGVET

MARLON RIBEIRO

**INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA E EXPERIMENTAL POR *CROTALARIA*
SPECTABILIS (FABACEAE) EM BOVINOS**

CUIABÁ - MT

2020

MARLON RIBEIRO

**INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA E EXPERIMENTAL POR *CROTALARIA*
SPECTABILIS (FABACEAE) EM BOVINOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (PPGVET) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso, como requisito para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, área de concentração: Sanidade Animal.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Henrique Furlan

Co-Orientador: Prof. Dr. Edson Moleta Colodel

CUIABÁ - MT

2020

FICHA CATALOGRÁFICA

R484i Ribeiro, Marlon.
INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA E EXPERIMENTAL POR CROTALARIA
SPECTABILIS (FABACEAE) EM BOVINOS / Marlon Ribeiro. -- 2020
50 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientador: Fernando Henrique Furlan.

Co-orientador: Edson Moleta Colodel.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de
Agronomia, Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências
Veterinárias, Cuiabá, 2020.

Inclui bibliografia.

1. Doenças de bovinos. 2. Alcalóides pirroolidínicos. 3. Monocrotalina. 4.
Fibrose hepática. I. Título.



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: "Intoxicação espontânea e experimental por *Crotalaria spectabilis* (Fabaceae) em bovinos"

AUTOR : Mestrando Marlon Ribeiro

Dissertação defendida e aprovada em 02/03/2020.

Composição da Banca Examinadora:

Presidente Banca / Orientador	Doutor	Fernando Henrique Furlan Gouveia
Instituição :	UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO	
Examinador Interno	Doutor	Marciel Becker
Instituição :	UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO	
Examinador Externo	Doutor	Flávio Henrique Bravim Caldeira
Instituição :	INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA-IFRO	
Examinador Suplente	Doutor(a)	Caroline Argenta Pescador
Instituição :	UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO	

CUIABÁ, 02/03/2020.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus que me possibilitou de alcançar sonhos inimagináveis. Ao meu mentor espiritual que sempre esteve me acompanhando, me auxiliando e orientando pelo melhor caminho, interferindo e colocando tantas pessoas maravilhosas em minha volta e me ajudando a superar momentos difíceis.

Agradeço à minha família, especialmente ao meu avô, Antonio Knebel, a vida nunca acaba e aí em seu novo lar sei que vibra junto com as conquistas e que juntamente com minha querida vozinha, Elma Knebel (a quem também dedico essa formação) a essa família linda, unida e cheia de valores, família essa, tios e tias, que me amparou desde sempre durante todos esses anos da minha vida, tudo que sou hoje é reflexo da convivência de exemplos que pude absorver com vocês, em especial a minha mãe, Terezinha Maria Knebel, que nunca mediu esforços para nunca faltar nada, e mesmo com tanta dificuldade ainda conseguiu trilhar seus filhos pelo caminho do bem, sempre me incentivando a não parar de estudar.

Agradeço também ao meu pai, Antonio Ribeiro, que mais é mais do que um amigo, é uma grande fonte de inspiração, de amizade, companheirismo, demonstrando sempre que a vida tem um lado positivo para se olhar, e que todo mundo passa por dificuldades e que estamos aqui pra aprender juntos, obrigado meu pai, pelo apoio moral, pessoal e por me ajudar chegar até aqui.

Agradeço aos meus irmãos, Maicon Ribeiro e Rafael Knebel Pereira, somos um braço forte, uma viga de apoio que sustenta uns aos outros nesta família, tenho muito orgulho de vocês e sou eternamente grato por ter o sangue de vocês dentro de minhas veias, essa é a prova que a distância, mesmo que silenciosa nunca pode separar a gente de verdade, sempre contem comigo.

Agradeço ao meu professor e orientador Dr. Fernando Henrique Furlan, que acompanhou desde a minha primeira estadia na patologia, incentivou, me apoiou de uma forma indescritível, participando em muitas etapas difíceis e que se empenhou de uma forma exemplar para que este trabalho saísse com maestria. À professora Dr^a Caroline Argenta Pescador por ser muito mais do que uma preceptora, por provocar ciúmes na minha mãe por achar que estava sendo substituída, agradeço a tudo que fez para ajudar e me incentivar a buscar sempre o melhor, sua amizade é muito importante. Ao professor Edson Moleta Colodel que sempre esteve ali para me auxiliar, me incentivando a buscar sempre o melhor de mim, especialmente no meu engrandecimento profissional e raciocínio crítico, que certamente é o que fará a grande diferença na minha vida.

Agradeço aos meus amigos de laboratório e aos demais que direta ou indiretamente participaram da minha vida durante todo esse período, segurando minhas ðuchasôdurante todo esse tempo, muito obrigado!

RESUMO

INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA E EXPERIMENTAL POR *CROTALARIA SPECTABILIS* (FABACEAE) EM BOVINOS.

São descritos os achados epidemiológicos, clínicos e morfológicos da intoxicação espontânea e experimental por *Crotalaria spectabilis* em bovinos. A intoxicação espontânea ocorreu em uma Propriedade no município de Sapezal, Mato Grosso (MT), após 20 dias da introdução de um rebanho bovino em um piquete invadido por *C. spectabilis* sendo que seis bovinos adoeceram e morreram e um deles foi submetido à necropsia. O restante dos animais foi transferido para pastos, livres de *Crotalaria spp* em uma propriedade no Município de São José do Rio Claro, MT. Dentre os bovinos transferidos, no decorrer de 45 dias, 35 animais adoeceram e 15 morreram, sendo dois submetidos a necropsia. Os sinais observados foram perda de peso, icterícia, decúbito, movimentos de pedalagem e morte. As principais alterações macroscópicas foram observadas no fígado que apresentava-se firme e amarelado com áreas irregulares brancacentas. Microscopicamente as alterações hepáticas envolviam fibrose periacinar a coalescente, megalocitose, degeneração microvacuolar e colestase. Lesões vasculares com diferentes intensidades foram observadas em pulmão e rim dos três bovinos. No encéfalo havia *Status spongiosus* em dois bovinos. A doença foi reproduzida experimentalmente em bovinos através da administração via oral de sementes de *Crotalaria spectabilis* na dose de 1g/kg/dia por 30 dias. Os sinais clínicos foram observados 87 dias após a ingestão da primeira dose e a morte ocorreu dois dias após o início dos sinais clínicos em ambos os animais. Os sinais clínicos e macroscópicos observados foram similares aos observados na intoxicação espontânea.

Palavras-Chave: Doenças de Bovinos, *Crotalaria spectabilis*, Alcaloides Pirroolidínicos, Monocrotalina, Fibrose Hepática.

ABSTRACT

SPONTANEUS AND EXPERIMENTAL POISONING BY *Crotalaria spectabilis* (FABACEAE) IN CATTLE.

Epidemiological, clinical and morphological findings of spontaneous and experimental poisoning by *Crotalaria spectabilis* in bovines were described. Spontaneous intoxication occurred in a farm in the municipality of Sapezal, Mato Grosso (MT), 20 days after the introduction of bovines in a pasture invaded by *C. spectabilis*, six cattle were affected and died and one of them was submitted to necropsy. After this, the remaining cattle in that pasture were transferred to a property in the municipality of São José do Rio Claro, MT. In this farm, 45 days after the bovines were transported, 35 of them were sick, 15 died and 2 was submitted to necropsy. . The sick bovines showed weight loss, jaundice, recumbence, pedaling movements and death. The main macroscopic changes were observed in the liver and were firm and yellowish irregular areas. Microscopically, hepatic findings were fibrosis, , megalocytosis, microvacuolar degeneration and cholestasis. Vascular lesions with different intensities were observed in the lungs and kidney of three cattle. There was status spongiosus in two cattle. The disease was experimentally reproduced in cattle through administration via oral of seeds of *Crotalaria spectabilis* at a dose of 1g / kg / day for 30 days. Clinical signs were observed 87 days after ingestion of the first dose and death occurred two days after the onset of clinical signs in both animals. The clinical and macroscopic signs observed were similar to those observed in spontaneous intoxication.

.

Key words: Bovine diseases, *Crotalaria spectabilis*, Pyroizolidinic alkaloids, Monocrotaline, Hepatic fibrosis.

LISTA DE FIGURAS

- Imagem 01:** piquete onde ocorreu a intoxicação por *Crotalaria* sp em bovinos no município de Sapezal, MT. Pastagem invadida por *Crotalaria* spp.: No detalhe, *Crotalaria* spp.....20
- Imagem 02:** Bovino 3. Intoxicação espontânea por *Crotalaria spectabilis*. Nota-se proeminência dos ossos dos processos dorsais e dos íleos e ísquios, as costelas possuem pouca cobertura, os processos transversos permanecem visíveis e a região do vazio é profunda.....21
- Imagem 03:** Fígado do Bovino 3. Intoxicação espontânea por *C. spectabilis*. A superfície capsular apresenta áreas irregulares multifocais a coalescente de coloração amarelo-brancacentas.....22
- Imagem 04:** Fígado do Bovino 3. Intoxicação espontânea por *C. spectabilis*. A superfície de corte apresentando áreas multifocais a coalescentes e irregulares de coloração amarelo-brancacentas.....23
- Imagem 05:** Fígado do Bovino 3. Intoxicação espontânea por *C. spectabilis*. Área com acentuada desorganização hepatocelular e substituição de parênquima hepático por tecido conjuntivo fibroso e proliferação de canálículos biliares. HE. Obj. 100x.....24
- Imagem 06:** Fígado do Bovino 3. Intoxicação espontânea por *C. spectabilis*. Evidenciação da deposição de colégeno em áreas de proliferação multifocal a coalescente de tecido conjuntivo fibroso. Tricrômico de Masson. Obj. 50x.....24
- Imagem 07:** Bovino 5. Nota-se proeminência dos ossos íleos e ísquios e as costelas são proeminentes e com pouca cobertura.....27

Imagem 08: Bovino 4. Intoxicação experimental com 1g/kg/dia de sementes de *C. spectabilis*. Superfície capsular apresenta áreas irregulares multifocais a coalescentes de coloração amarelo-brancacentas.....27

Imagem 09: Bovino 4. Intoxicação experimental com 1g/kg/dia de sementes de *C. spectabilis*. Superfície de corte apresentando coloração difusa amarelada a enegrecida.....28

Imagem 10: Bovino 4. Intoxicação experimental com 1g/kg/dia de sementes de *C. spectabilis*. Substituição de parênquima hepático por tecido conjuntivo fibroso, desorganização de cordões de hepatócitos e proliferação de canálículos biliares. HE. Obj. 100x.....28

Imagem 11: Bovino 4. Intoxicação experimental com 1g/kg/dia de sementes de *C. spectabilis*. Hepatócitos apresentando megalocitose, degeneração vacuolar, desorganização da arquitetura hepatocelular e proliferação de tecido conjuntivo fibroso. HE. Obj. 400x.....29

Imagem 12: Bovino 4. Intoxicação experimental com 1g/kg/dia de sementes de *C. spectabilis*. Evidenciação da deposição de colégeno em áreas de proliferação multifocal a coalescente de tecido conjuntivo fibroso.. Tricrômico de Masson. Obj. 50x.....29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: dados epidemiológicos do surto de intoxicação natural por *Crotalaria spectabilis* em bovinos.....19

Tabela 2: Principais alterações histopatológicas observadas em bovinos intoxicados naturalmente e experimentalmente por *Crotalaria spectabilis*.....22

LISTA DE ABREVIATURAS E/OU SÍMBOLOS

- AP** ñ Alcalóide Pirrozolidínico
- APs** ñ Alcalóides Pirrozolidínicos
- AST** ñ Aspartato Aminotransferase
- BD** ñ Bilirrubina Direta
- BT** ñ Bilirrubina Total
- GGT** ñ Gama Glutamyltransferase
- HE** ñ Hematoxilina e Eosina
- iv** ñ intravenoso
- Kg** ñ Quilograma
- LPV** ñ Laboratório de Patologia Veterinária
- mg** ñ miligrama
- ml** ñ mililitro
- MNC** ñ Monocrotalina
- MT** ñ Mato Grosso
- SNC** ñ Sistema Nervoso Central
- sp** ñ espécie
- spp** ñ espécies
- UFMT** ñ Universidade Federal de Mato Grosso (Cuiabá).

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA	14
2.	OBJETIVO.....	15
3.	MATERIAL E METODOS	15
3.1.	Intoxicação Espontânea	15
3.1.1.	Dados Clínicos e Epidemiológicos	15
3.1.2.	Método de Eutanásia.....	15
3.1.3.	Processamento das Amostras	16
3.1.4.	Identificação e Registro da Planta	16
3.2.	Intoxicação Experimental	16
3.2.1.	Aspectos Éticos.....	16
3.2.2.	Sementes.....	17
3.2.3.	Animais.....	17
3.2.4.	Avaliação Hematológica	17
3.2.5.	Grupo Experimental	18
3.2.6.	Monitoramento.....	18
3.2.7.	Análise Estatística.....	18
4.	RESULTADOS	19
4.1.	Intoxicação Natural	19
4.1.1.	Dados Clínicos e Epidemiológicos	19
4.1.2.	Identificação e Registro da Planta	21
4.1.3.	Achados Macroscópicos e Microscópicos	22
4.2.	Intoxicação experimental.....	26
4.2.1.	Pesos e doses.....	26
4.2.2.	Sinais clínicos.....	26
4.2.3.	Alterações Macroscópicas e Microscópicas.....	27

5.	DISCUSSÃO.....	31
6.	CONCLUSÃO	34
7.	REFERÊNCIAS	34

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

Espécies do gênero *Crotalaria* (Leg. Papilionoideae) são leguminosas muito utilizadas na agricultura para cobertura do solo e rotação de culturas, uma vez que promovem fixação de nitrogênio no solo e auxiliam no combate aos nematoides que causam lesões radiculares (DEBIASI *et al.*, 2016), porém, também são invasoras de plantações e pastagens e podem causar intoxicação em animais de interesse pecuário (TOKARNIA *et al.*, 2012).

Numerosas espécies de *Crotalaria* são responsáveis por intoxicações em animais domésticos: *C. burkeana*, *C. spectabilis*, *C. retusa*, *C. pallida* (*C. mucronata*) para bovinos (STEYN, 1934; BECKER *et al.*, 1935; THOMAS *et al.*, 1935; SANDERS *et al.*, 1936; PIERCY e RUSOFF, 1946; EMMEL, 1948; LEMOS *et al.*, 1997; NOBRE *et al.*, 2004a); *C. globifera*, *C. dura*, *C. retusa*, *C. medicaginea*, *C. juncea* para equinos (STEYN, 1934, FLETCHER *et al.*, 2011; NOBRE *et al.*, 2004 a, b; BOTHA *et al.*, 2012); *C. globifera*, *C. duram*, *C. retusa*, *C. pallida* (*C. mucronata*) para ovinos (STEYN, 1934; NOBRE *et al.*, 2004a; DANTAS *et al.*, 2005; NOBRE *et al.*, 2005; RIET CORREA *et al.*, 2011; BORELLI *et al.*, 2015), *C. spectabilis* para suínos (UBIALI *et al.*, 2011), *C. retusa* para suínos (HOOPER e SCANLAN, 1977) e caprinos (MAIA *et al.*, 2013).

Dentre as plantas do gênero, *Crotalaria spectabilis* é considerada a espécie mais tóxica (BURROWS e TYRL, 2013) e foi descrita causando lesões hepáticas em bovinos (SANDERS *et al.*, 1936; PIERCY e RUSOFF, 1946; EMMEL, 1948) e suínos (UBIALI *et al.*, 2011). O princípio ativo mais importante é o alcaloide pirroolidínico (AP) retronecina denominado monocrotalina (MNC) que após a ingestão, pode ser dehidrogenada em hepatócitos pelo complexo enzimático citocromo P-450, formando diésteres pirrólicos ativos (MATTOCKS, 1986; CHEEKE, 1988; HUXTABLE, 1990, FU *et al.*, 2004; BURROWS e TYRL, 2013; MOREIRA *et al.*, 2018), os quais se ligam irreversivelmente ao ácido nucleico (BURROWS e TYRL, 2013), especialmente em hepatócitos, pulmão ou rins, e que mesmo sem interferência significativa na síntese de DNA, inibem a mitose destas células (BURROWS e TYRL, 2013; YAO, 2014; MOREIRA *et al.*, 2018). Em hepatócitos causam acentuado aumento de volume nuclear e citoplasmático, resultando em

hepatomegalocitose (BULL, 1955; CHEEKE, 1988). Com a morte dos hepatócitos há substituição por tecido fibroso (CHEEKE, 1988; BURROWS e TYRL, 2013).

A intoxicação se manifesta de uma forma aguda, na qual se observa necrose hepatocelular zonal, predominantemente centrolobular ou de forma crônica, caracterizada predominantemente por fibrose hepática (SANDERS *et al.*, 1936; PIERCY e RUSOFF, 1946; EMMEL, 1948; UBIALI *et al.*, 2011).

2. OBJETIVO

Esse trabalho visa escrever os aspectos epidemiológicos, clínicos e anatomopatológicos de um surto de intoxicação espontânea por *C. spectabilis* em bovinos, e avaliar os aspectos clínicos, anatomopatológicos e toxicológicos da intoxicação experimental por de sementes de *C. spectabilis* em bovinos.

3. MATERIAL E METODOS

3.1. Intoxicação Espontânea

3.1.1. Dados Clínicos e Epidemiológicos

Históricos e dados epidemiológicos foram obtidos *in loco*, durante visita técnica realizada pela equipe do Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da Universidade Federal de Mato Grosso, Campus Cuiabá (UFMT) e junto ao veterinário que presta serviços às duas propriedades onde ocorreu a doença nos municípios de Sapezal, MT (propriedade A) e São José do Rio Claro, MT (Propriedade B). Adicionalmente, durante a visita foi realizado inspeção de pastagem, ração e água em ambas as propriedades.

3.1.2. Método de Eutanásia

Quando necessário (*in extremis*), procedeu-se através da aplicação intravenosa de tiopental sódico 1g, na dose de 10mg/kg, e indução da parada cardíaca com injeção intravenosa rápida e contínua de 350mL de cloreto de potássio saturado à 20% (Resolução CFMV N°1000/2012).

3.1.3. Processamento das Amostras

Durante a necropsia foi realizada a coleta sistemática de amostras do sistema nervoso central, hipófise, pulmão tireóide, coração, fígado, baço, rins, adrenais, intestinos, sistema linfático, músculo esquelético, pâncreas, glândula salivar. As amostras coletadas foram fixadas em solução de formalina 10% tamponada e processadas rotineiramente para avaliação histológica em microscopia ótica, como descrita anteriormente. para fixação em formalina tamponada a 10% e rotineiramente processadas para análise histológica como segue: desidratação em álcool, diafinização em xilol e impregnação em parafina histológica. Seções de cinco micrometros de espessura foram obtidas em micrótomo rotativo e corados pelas técnicas de Hematoxilina e Eosina (HE) para análise rotineira em microscopia ótica, e para evidencição do colágeno depositado no parênquima hepático foi utilizado a técnica histoquímica Tricrômico de Masson (PROPHET *et al.*, 1992), que destaca o colágeno em azul, para avaliação de intensidade e distribuição da fibrose em microscopia ótica.

3.1.4. Identificação e Registro da Planta

Amostras de uma planta do gênero *Crotalaria*, coletadas na área de pastoreio dos bovinos na propriedade onde ocorreu a doença espontânea, foram coletadas em exsicata e encaminhadas para identificação botânica ao Herbário Central da UFMT.

3.2. Intoxicação Experimental

3.2.1. Aspectos Éticos

Este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Mato Grosso (Protocolo 23108.918801/2017-87), estando de acordo com os princípios éticos na experimentação animal, adotados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL).

3.2.2. Sementes

As sementes de *C. spectabilis* foram obtidas em uma sementeira de uma fazenda localizada no município de Nova Xavantina - MT, que cultivam exclusivamente essa espécie de *Crotalaria* entre as principais safras com a finalidade de plantio em consórcio com o milho em outras propriedades pertencentes ao mesmo proprietário. O processo de obtenção das sementes ocorreu por colheita mecanizada e posteriormente foram armazenadas em galpões ao abrigo de luz e umidade. Depois de obtidas, as sementes foram trituradas em macro moinho (Macro Moinho Nova Organica®, Brasil) e armazenados congelados para posterior fornecimento aos bovinos.

3.2.3. Animais

Foram selecionados, em uma propriedade livre de *Crotalaria spp*, localizada no município de Santo Antônio de Leverger, quatro bovinos jovens de aptidão leiteira, machos, ruminantes ativos, com 12 meses de idade e sem raça definida, que se encontravam dentro dos padrões considerados normais para a espécie ao hemograma completo e perfil bioquímico (Alanina Aminotransferase (ALT), Gama Glutamiltransferase (GGT), bilirrubina total (BT) e bilirrubina direta (BD)).

3.2.4. Avaliação Hematológica

Para atestar a sanidade, os bovinos selecionados foram submetidos à avaliação hematológica composta por hemograma completo e perfil bioquímico para quantificação de Alanina Aminotransferase (ALT), Gama Glutamiltransferase (GGT), bilirrubina total (BT) e bilirrubina direta (BD). Para isso, colheu-se 5 ml de sangue total da veia jugular ou coccígea de cada bovino, com agulha 40x12, sendo 1ml acondicionado em tubo contendo anticoagulante (Tubo à vácuo estéril com EDTA K3, 5ml de capacidade, Vacuplast Colect Line, Brasil) para a realização do hemograma e 4 ml em tubo com ativador de coágulo (Tubo com ativador de coágulo, capacidade 10ml, Cacuplast Colect Line, Brasil) para realização do perfil bioquímico, sendo abrigado da luz por papel alumínio imediatamente após a coleta e acondicionados em caixa isotérmica contendo gelo reciclável. Após a retração do

coágulo, as amostras foram centrifugadas a 3.500 rpm, por 10 minutos. O soro obtido foi processado e analisado no mesmo dia em analisador bioquímico Wiener CM200 (Wiener Lab., Rosário, Argentina), por meio de kits comerciais Wiener Lab® para AST, GGT, BT e BD.

3.2.5. Grupo Experimental

Os bovinos selecionados foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos contendo dois animais cada. Os bovinos foram alocados em piquetes medindo 160m², pesados em balança bovina (J. R. Equipamentos, BA01/2018, capacidade 1000kg, Brasil), e adaptados durante o período de sete dias, recebendo durante esse período alimentação a base de feno de Tifton, silagem de milho, ração e sal mineral e água *ad libidum*. O primeiro grupo (Bovinos 4 e 5) recebeu, como complemento da dieta, 1g/kg/dia de sementes de *Crotalaria spectabilis* trituradas via oral durante trinta dias. O segundo grupo (Bovinos 6 e 7) não recebeu complemento de sementes na dieta.

3.2.6. Monitoramento

Os grupos foram monitorados clinicamente diariamente, do dia 0 ao dia 60 do experimento quanto à presença ou ausência de sinais clínicos como: apatia, prostração, dificuldade de locomoção, edema de barbelas ou partes baixas, anorexia, decúbito e alterações de parâmetros vitais (frequência cardíaca e frequência respiratória), coloração de mucosas e tempo de preenchimentos capilares (TPC) e pesados semanalmente. Após esse período, os animais passaram a ser monitorados visualmente diariamente e os parâmetros clínicos aferidos semanalmente, por um período de 6 meses.

Os bovinos que morreram durante período de experimentação foram submetidos à necropsia, coleta sistemática de amostras e processamento como descrito acima (item 3.1.3. Processamento de Amostras)

3.2.7. Análise Estatística

A análise estatística empregada foi a estatística descritiva para as variáveis obtidas nas análises clínicas e morfológicas.

4. RESULTADOS

4.1. Intoxicação Natural

4.1.1. Dados Clínicos e Epidemiológicos

A intoxicação natural ocorreu entre os meses de Agosto e Outubro do ano de 2017, em duas propriedades rurais, a primeira localizada no município de Sapezal, MT (propriedade A) e a segunda localizada no município de São José do Rio Claro, MT (Propriedade B) ambas pertencentes ao mesmo grupo empresarial. Os dados epidemiológicos dos surtos estão descritos a seguir na Tabela 1.

Tabela 1: dados epidemiológicos do surto de intoxicação natural por *Crotalaria spectabilis* em bovinos

Propriedade	Nº de animais piquete	Mês/ano da introdução ao piquete	Mês/ano dos sinais clínicos	Nº de doentes	(%) de doentes	Nº de mortes	(%) de mortes
A	200	08/2017	08/2017	6	3%	6	3%
B	150	08/2017*	10/2017	35	23.3%	15	10%

*bovinos da propriedade B se intoxicaram na propriedade A.

A intoxicação espontânea ocorreu entre os meses de Agosto e Outubro do ano de 2017, em duas propriedades rurais, a primeira localizada no município de Sapezal, MT (propriedade A) e a segunda localizada no município de São José do Rio Claro, MT (Propriedade B). Na propriedade A, onde se faz recria de bezerros, o médico veterinário da fazenda relatou que um lote de 200 bovinos foi introduzido em um piquete de 125 hectares formado por *Brachiaria brizantha* intensamente invadido por plantas do gênero *Crotalaria*. Nesta propriedade utiliza-se o sistema integração lavoura/pecuária e, no ano anterior ao plantio da pastagem (2016), houve plantio de milho em consórcio com *Crotalaria spectabilis* com o objetivo para combate aos nematoides das lesões radiculares, fixação de nitrogênio e adubação verde. Após o plantio da pastagem houve a germinação de sementes que permaneceram viáveis após a incorporação da matéria verde ao solo. Na época que os bovinos foram introduzidos nos piquetes a *Crotalaria* spp se encontrava na fase de floração e/ou produção de vagens (verificado *in loco* após a investigação na propriedade B). Após um período de 20 dias nesta pastagem, seis bovinos (3%) adoeceram apresentando

perda de peso, icterícia moderada, decúbito com movimentos de pedalagem e morreram rapidamente e um bovino (Bovino 1) foi submetido à necropsia pelo veterinário da fazenda, e fragmentos de fígado, rim, pulmão, coração e encéfalo foram encaminhados para análise no Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT). Considerando as lesões hepáticas observadas durante a necropsia, o médico veterinário que dava assistência à propriedade atribuiu a mortalidade daqueles bovinos ao consumo de *Crotalaria* spp e recomendou que os bovinos restantes, que se encontravam nos piquetes invadidos pela planta, fossem para transferidos para outra propriedade.



Imagem 01: piquete onde ocorreu a intoxicação espontânea por *Crotalaria* sp. em bovinos no município de Sapezal, MT. Pastagem invadida por *crotalaria* spp.; No detalhe, *Crotalaria* spp.

A Propriedade B faz terminação de bovinos em sistema de semiconfinamento, compondo lotes com aproximadamente 150 bovinos oriundos de diversas fazendas de acordo com a rotina de compra de gado daquele grupo empresarial. Nesta propriedade, os bovinos eram todos lotados em piquetes formados por *Brachiaria brizantha* e, adicionalmente, recebiam ração batida na propriedade com núcleo concentrado, que era diretamente fornecido no cocho e água *ad libitum*. Em um desses lotes, no período de 45 dias a partir da data de introdução dos animais ao semiconfinamento, adoeceram 35 bovinos (23,3%). Estes animais apresentaram perda de peso com escore corporal variando entre 1 e 2 (Imagem 02) (em uma

escala de 1 a 5) (MARLOWE et al. 1962), icterícia e aumento de volume abdominal e dentre os animais doentes, 15 bovinos morreram (10%) e um (Bovino 2) foi submetido à necropsia pelo médico veterinário que dá assistência à propriedade e um outro bovino (Bovino 3), durante a visita da equipe do LPV-UFMT, foi submetido à eutanásia *in Extremis* seguida de necropsia. Durante a investigação, da mortalidade que ocorreu na Propriedade B não foram encontrados fatores que pudessem ser responsáveis pelo quadro observado nos animais, e ao levantar a origem do lote de bovinos, verificou-se que todos os bovinos que adoeceram e morreram na propriedade B eram oriundos da propriedade A. Procedeu-se então a visita a campo na propriedade A para coleta de plantas *in loco* para classificação da espécie de *Crotalaria* spp. Os demais animais foram alocados em outros piquetes e neles não foi observado sinais clínicos como descritos nos demais animais expostos à *Crotalaria spectabilis*.



Imagem 02: Bovino 3. Intoxicação espontânea por *Crotalaria spectabilis*. Nota-se proeminência dos ossos dos processos dorsais e dos íleos e ísquios, as costelas possuem pouca cobertura, os processos transversos permanecem visíveis e a região do vazio é profunda.

4.1.2. Identificação e Registro da Planta

Amostras da planta coletadas na propriedade A foram identificadas pela equipe do Herbário Central da UFMT, como *Crotalaria spectabilis* e registradas sob o número de protocolo 44306 no Herbário Central da UFMT.

4.1.3. Achados Macroscópicos e Microscópicos

À necropsia as lesões observadas nos três bovinos foram semelhantes e variaram apenas em intensidade (Tabela 2). Notou-se baixa condição corporal; o fígado apresentava-se com volume diminuído e com superfície capsular levemente irregular. Na superfície capsular e de corte se observou áreas amarelo-brancacentas com consistência firme e distribuição aleatória multifocal a coalescente (Imagem 3 e 4). Na cavidade abdominal havia aproximadamente seis litros de líquido amarelado e translúcido. O pulmão não estava colabado, tinha consistência fibroelástica e era levemente hipocriptante.

Microscopicamente as principais lesões foram observadas no fígado e, em menor intensidade, nos pulmões, rins e sistema nervoso central (SNC) (Tabela 2).

Tabela 2: Principais alterações histopatológicas observadas em bovinos intoxicados naturalmente e experimentalmente por *Crotalaria spectabilis*.

Alteração/bovino	1*	2*	3*	4**	5**	6**	7**
Fibrose hepática	+	+++	+++	+++	+	N/A	N/A
Megalocitose	++	++	+++	+++	++	N/A	N/A
Proliferação ductal	+	++	+++	+++	++	N/A	N/A
Ausência de hepatócitos	+++	++	+++	+++	-	N/A	N/A
Dilatação sinusoidal	+++	-	+	+++	-	N/A	N/A
Lesão vascular pulmonar	+	++	++	+	-	N/A	N/A
Lesão vascular renal	+	+	+	-	-	N/A	N/A
Vacuolização SNC	-	+	++	+++	-	N/A	N/A

*: intoxicação natural; **: intoxicação experimental; (-): ausente; (+): baixa intensidade; (++) : moderada intensidade; (+++): acentuada intensidade. NA: não se aplica (necropsia não realizada)



Imagem 03: Fígado do Bovino 3. Intoxicação espontânea por *C. spectabilis*. A superfície capsular apresenta áreas irregulares multifocais a coalescente de coloração amarelo-brancacentas



Imagem 04: Fígado do Bovino 3. Intoxicação espontânea por *C. spectabilis*. A superfície de corte apresentando áreas multifocais a coalescentes e irregulares de coloração amarelo-brancacentas

As lesões hepáticas foram semelhantes e se caracterizam por proliferação de tecido fibroso que substituía grande parte do parênquima hepático e provocava desarranjo dos sinusóides hepáticos. Essa lesão foi predominantemente centrolobular no Bovino 1 e multifocal a coalescente nos bovinos 2 e 3 (Imagem 05). A proliferação de tecido fibroso e deposição de colágeno foi evidenciada através da coloração Tricromico de Masson (Imagem. 06). Os hepatócitos remanescentes apresentavam degeneração citoplasmática microvacuolar e frequentemente se

observou megalocitose. Havia ainda moderada a intensa colestase e, na região portal, notou-se proliferação moderada a acentuada de ductos biliares e hiperplasia do epitélio ductal. Adicionalmente, em algumas áreas do fígado do Bovino 1 havia ausência de hepatócitos na região centrolobular acompanhada de dilatação do sinusoides hepáticos e fibrose leve a moderada, e por vezes essa lesão se estendia até a região mediozonal ou à região centrolobular adjacente.

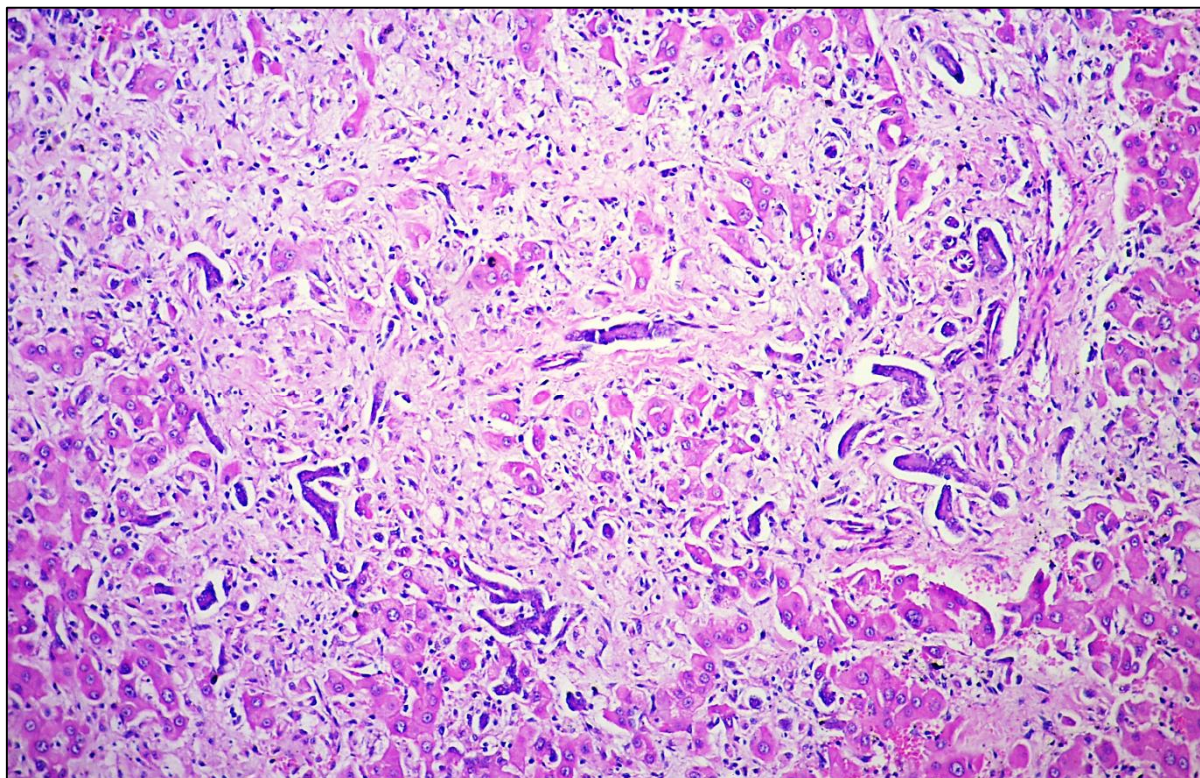


Imagem 05: Fígado do Bovino 3. Intoxicação espontânea por *C. spectabilis*. Área com acentuada desorganização hepatocelular e substituição de parênquima hepático por tecido conjuntivo fibroso e proliferação de canálculos biliares. HE. Obj. 100x.

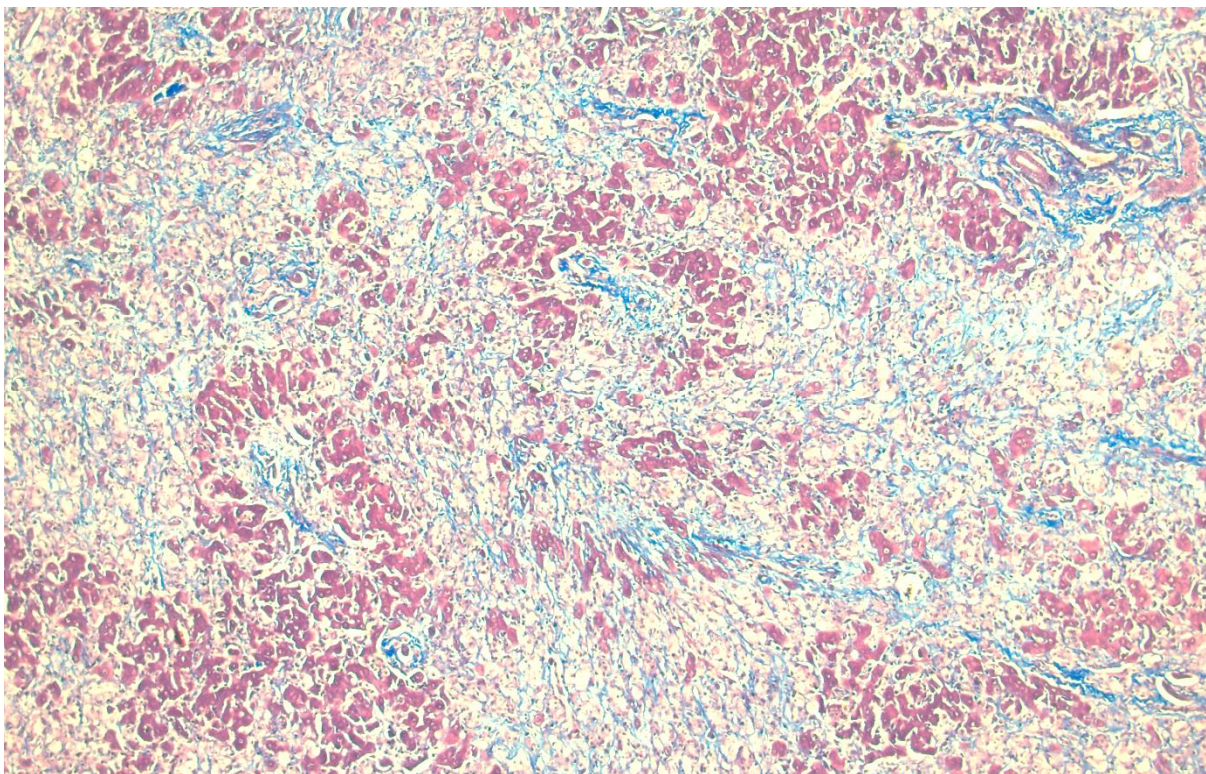


Imagem 06: Fígado do Bovino 3. Intoxicação espontânea por *C. spectabilis*. Evidenciação da deposição de colágeno em áreas de proliferação multifocal a coalescente de tecido conjuntivo fibroso. Tricrômico de Masson. Obj. 50x

Nos pulmões dos três bovinos havia lesões de arteríolas e no parênquima pulmonar. As lesões vasculares foram caracterizadas por espessamento das células endoteliais da túnica íntima, degeneração vacuolar leve a moderada nas fibras musculares e maior espaçamento de fibras na túnica média, levando ao espessamento dessa camada e diminuição da luz do vaso que em alguns casos ficavam obliterados pelas células endoteliais espessadas. Por vezes se notou ainda leve a moderado infiltrado linfoplasmocitário. Já na túnica adventícia notou-se moderado a intenso espaçamento entre as fibras muitas vezes causando aspecto desorganizado nesta camada. No parênquima pulmonar havia infiltrado linfoplasmocitário leve a moderado acompanhado de edema e megalocitose. Essas alterações levavam ao espessamento dos septos interalveolares.

Nos rins havia lesões glomerulares, tubulares e em arteríolas da região corticomedular. Os corpúsculos renais estavam ingurgitados por espessamento do mesângio e leve espessamento das membranas basais de capilares glomerulares, adicionalmente, no espaço de Bowman havia leve deposição de material amorfo e hialino. Nas arteríolas da junção corticomedular havia espessamento moderado a acentuado entre as fibras musculares.

No telencéfalo, tálamo, hipotálamo, hipocampo, mesencéfalo, medula oblonga, cerebelo e medula espinhal havia vacuolização de intensidade variada que se na substância branca e junção com substância cinzenta (*Status spingiosus*). As lesões foram leves no Bovino 1 e moderadas no Bovino 3.

4.2. Intoxicação experimental

4.2.1. Pesos e doses

A administração de sementes trituradas teve início no dia 07/10/2019 e finalizou no dia 06/11/2019, totalizando trinta dias de administração. As doses (1g/Kg) foram ajustadas individualmente de acordo com o peso dos Bovinos 4 e 5 que receberam 146g e 110g de sementes trituradas por dia, respectivamente.

4.2.2. Sinais clínicos

Durante a experimentação houve alteração dos parâmetros clínicos. Para os quatro bovinos (4, 5, 6 e 7) pertencentes à experimentação, a frequência cardíaca mensurada se manteve entre 49 (mínimo) e 64 (máximo) batimentos por minuto, a frequência respiratória se manteve entre 39 (mínimo) e 48 (máximo) movimentos por minuto, não houve alteração de coloração de mucosas, inapetência, prostração ou perda de peso. As alterações clínicas foram observadas a partir do dia 87 após o início da administração das sementes, sendo o quadro clínico nos Bovinos 4 e 5 caracterizados por apatia, prostração, anorexia, emagrecimento, decúbito esternal, decúbito lateral e morte após 48 e 52 horas, respectivamente. Nenhum dos bovinos pertencentes ao grupo controle (Bovinos 5 e 6) adoeceram em um período de 6 meses.

4.2.3. Alterações Macroscópicas e Microscópicas

Durante a necropsia do Bovino 4 apresentava escore corporal 2 (MARLOWE et al. 1962), notou-se ascite (10 litros), mucosas oculares e serosas estavam levemente ictéricas, o fígado apresentava-se de coloração marrom amarelada intercalado com áreas avermelhadas e sua consistência à palpação era firme (Imagem 8). A superfície de corte era irregular, de coloração amarelada e firme à palpação (Imagem 9). A vesícula biliar estava repleta e com equimoses e sufusões. O pulmão apresentava áreas avermelhadas de consistência levemente firme e hipocreptantes à palpação. Nos demais órgãos não havia alterações macroscópicas dignas de nota. Já o Bovino 5 apresentou escore corporal 1 (Imagem 7) (MARLOWE et al. 1962), fígado com tamanho reduzido, superfície capsular retraída e irregular, consistência firme à palpação e com padrão lobular evidente. A superfície de corte apresentava coloração vermelho escura e com áreas branco-amareladas irregulares. Os demais órgãos não apresentaram alterações.



Imagem 07: Bovino 5. Intoxicação experimental com 1g/kg/dia de sementes de *C. spectabilis*. Nota-se proeminência dos ossos íleos e ísquios e as costelas são proeminentes e com pouca cobertura



Imagem 08: Bovino 4. Intoxicação experimental com 1g/kg/dia de sementes de *C. spectabilis*. Superfície capsular apresenta áreas irregulares multifocais a coalescentes de coloração amarelo-brancacentas.

Microscopicamente a principal lesão observada nos animais localizava-se no fígado e era caracterizada por proliferação centro lobular a coalescente de tecido fibroso e deposição de colágeno que substituíam o parênquima hepático e era acompanhada de desarranjo dos cordões hepatocelulares adjacentes (Imagem 10). Os hepatócitos remanescentes apresentavam citoplasmas retraídos, fortemente eosinofílicos com degeneração microvacuolar, entre eles, frequentemente se observava megalocitose em diferentes intensidades (Imagem 11). A proliferação de tecido fibroso e deposição de colágeno era melhor evidenciada através da coloração do Tricômico de Masson. Essa lesão foi acentuada no Bovino 4 e leve a moderada no Bovino 5 (Imagem 12).



Imagem 09: Bovino 4. Intoxicação experimental com 1g/kg/dia de sementes de *C. spectabilis*. Superfície de corte apresentando coloração difusa amarelada a enegrecida

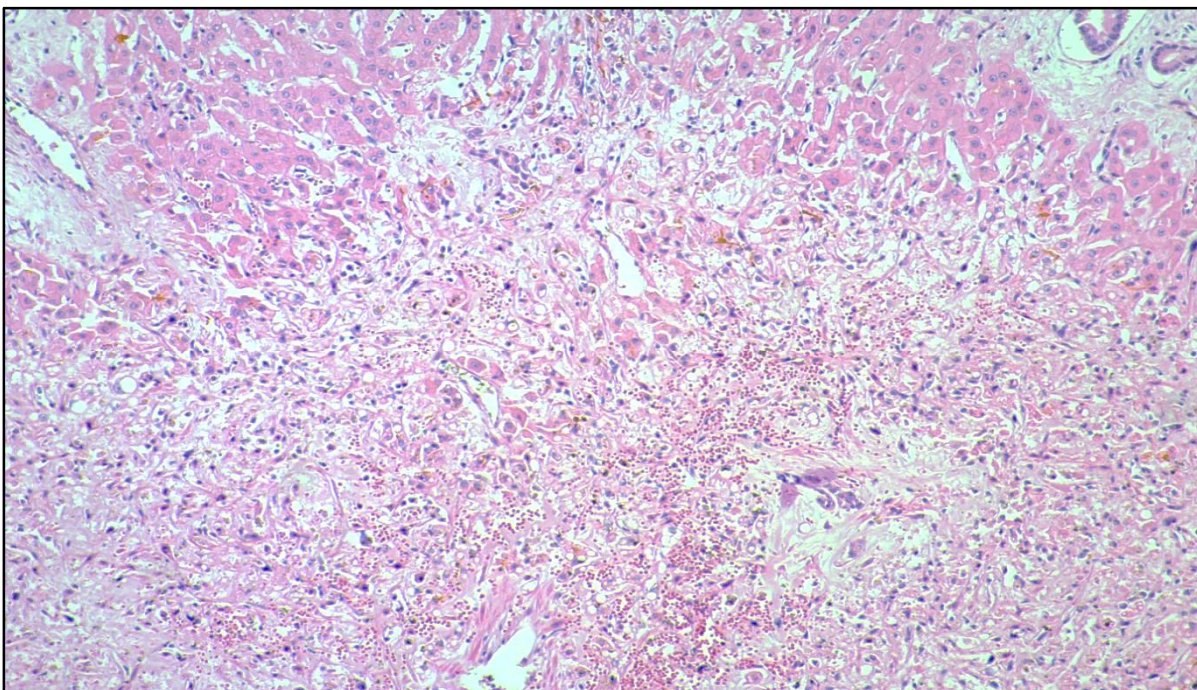


Imagem 10: Bovino 4. Intoxicação experimental com 1g/kg/dia de sementes de *C. spectabilis*. Substituição de parênquima hepático por tecido conjuntivo fibroso, desorganização de cordões de hepatócitos e proliferação de canálculos biliares. HE. Obj. 100x

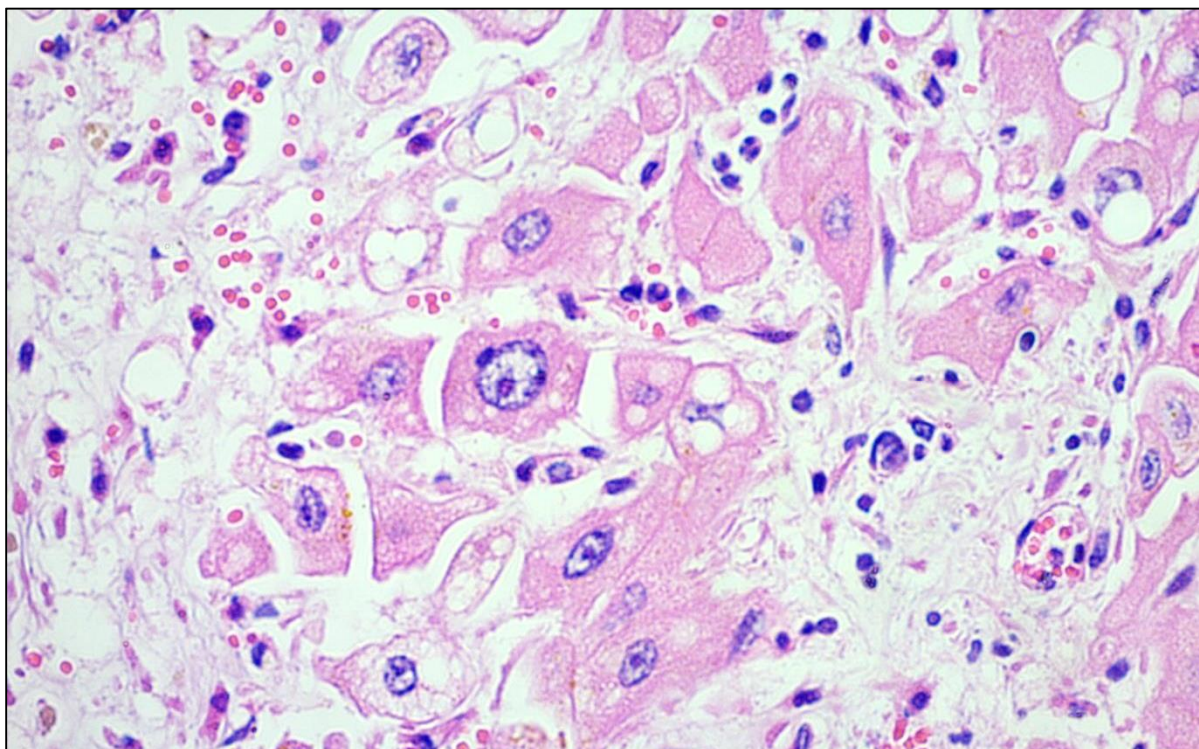


Imagem 11: Bovino 4. Intoxicação experimental com 1g/kg/dia de sementes de *C. spectabilis*. Hepatócitos apresentando megalocitose, degeneração vacuolar, desorganização da arquitetura hepatocelular e proliferação de tecido conjuntivo fibroso. HE. Obj. 400x

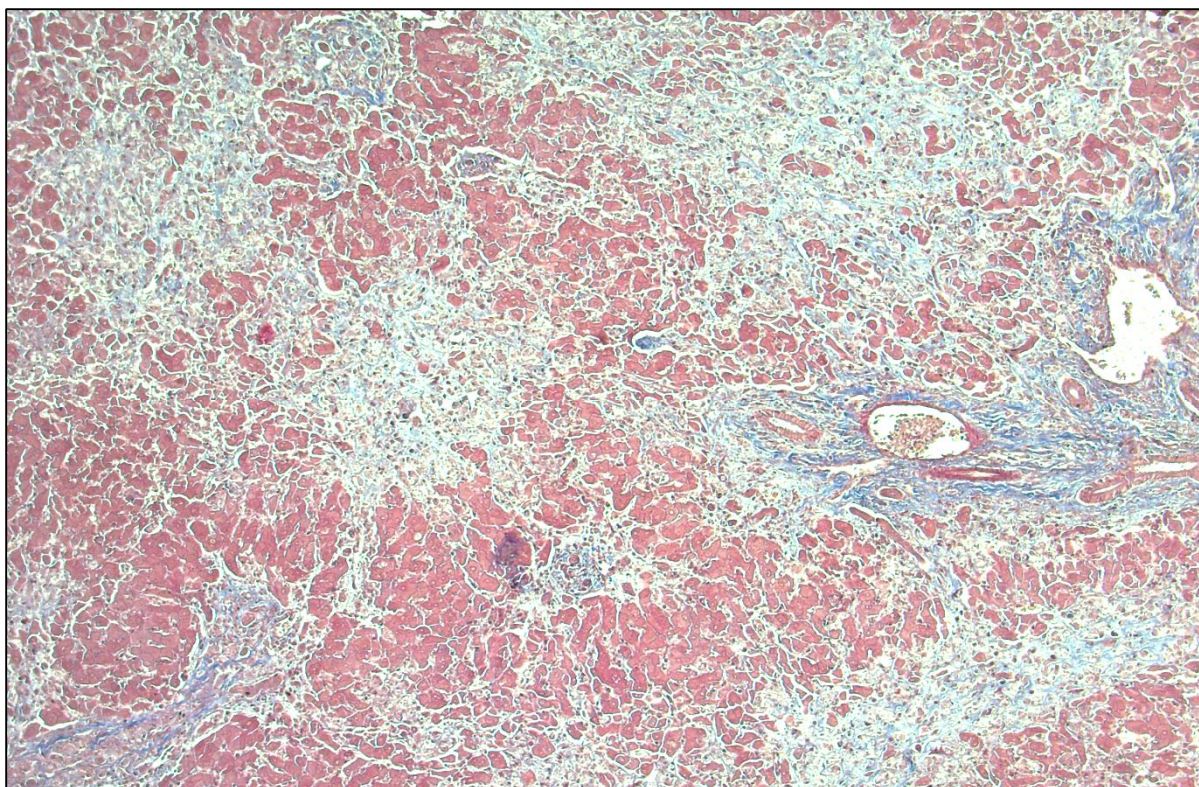


Imagem 12: Bovino 4. Intoxicação experimental com 1g/kg/dia de sementes de *C. spectabilis*. Evidenciação da deposição de colágeno em áreas de proliferação multifocal a coalescente de tecido conjuntivo fibroso.. Tricrômico de Masson. Obj. 50x

Havia ainda colestase leve a moderada e proliferação moderada a acentuada de ductos biliares. Adicionalmente, no Bovino 4 notou-se, nas artérias dos pulmões,

espessamento leve e desorganização da túnica íntima caracterizado por aumento do espaçamento entre fibras musculares. No telencéfalo, tálamo, hipotálamo, hipocampo, mesencéfalo, medula oblonga, cerebelo e medula espinhal havia vacuolização (*Status spongiosus*) de intensidade variada na substância branca e junção com substância cinzenta.

5. DISCUSSÃO

Frequentemente os casos de intoxicação espontânea por *Crotalaria* spp em herbívoros estão relacionados à alta infestação de pastagens pela planta, às vezes, associados à baixa disponibilidade de forragem (SANDERS *et al.*, 1936; PIERCY e RUSOFF, 1946; NOBRE *et al.*, 2004 a; NOBRE *et al.*, 2005; RIET CORREA *et al.*, 2011; MAIA *et al.*, 2013). Em suínos é comum que intoxicações ocorreram após o consumo de ração preparada com grãos contaminados por sementes de *Crotalaria* spp (HOOPER e SCANLAN, 1977; UBIALI *et al.*, 2011).

Neste estudo o fator determinante no consumo da planta pelos bovinos na intoxicação natural foi a introdução dos bovinos em piquetes de *Brachiaria brizantha* invadidos por *Crotalaria spectabilis*, que germinou após incorporação da planta ao solo, para preparação da pastagem. O consumo da planta pode estar atribuído a alta pressão de pastoreio exercido sobre a pastagem, o que resulta em rápida degradação da matéria verde volumosa tornando espécies invasoras, como a *Crotalaria spectabilis*, uma alternativa ao pastoreio do capim degradado.

Apesar de haver espécies de *Crotalaria* spp responsáveis por causar laminite em bovinos (STEYN, 1934; TOKARNIA, 2012), ou ainda síndrome urêmica em suínos (HOOPER e SCANLAN, 1977), a maioria das espécies descritas como tóxicas são responsáveis por quadros predominantemente hepáticos ou pulmonares (TOKARNIA, 2012). Em condições naturais, plantas do gênero *Crotalaria* são descritas como responsáveis por hepatopatia aguda em suínos (UBIALI *et al.*, 2011), ovinos (NOBRE *et al.*, 2004b) e caprinos (MAIA *et al.*, 2013), e crônica em Bovinos (SANDERS *et al.*, 1936; EMMEL, 1948; PIERCY e RUSOFF, 1946), ovinos, equídeos e caprinos (NOBRES *et al.*, 2004a). Neste estudo, baseado nos achados clínicos e lesionais da intoxicação natural e nos dados clínicos cronológicos e lesionais da intoxicação experimental, a doença foi caracterizada como uma hepatopatia tóxica crônica.

Na intoxicação espontânea, de acordo com os dados epidemiológicos levantados os bovinos apresentaram os primeiros sinais clínicos entre 20 e 65 dias após início do consumo e o curso clínico da doença variou de subagudo a crônico. Em contra partida, o estudo experimental realizado demonstrou que os bovinos avaliados apresentaram os primeiros sinais clínicos aos 87 dias após o início da exposição às sementes, ao passo que o grupo controle não apresentou alterações clínicas. Estudos realizados em bovinos já demonstraram que *C. Spectabilis* provoca doença crônica entre 60 e 75 dias após a administração a bovinos (SANDERS *et al.*, 1936; PIERCY e RUSOFF, 1946). Em outros experimentos realizados, em bovinos, utilizando *C. saltiana* e *C. anagrynoides* os animais, de modo geral, adoeceram após consumir a planta por 7 dias a 9 meses, portanto em curso clínico variando de aguda a crônico (BARRI e ADAM, 1981; TOKARNIA e DÖBEREINER, 1983). Bovinos intoxicados por plantas que contém alcaloides pirroolidínicos (AP) podem adoecer meses ou anos após terem ingerido a planta (SANDERS *et al.*, 1936; TOKARNIA E DÖBEREINER, 1984; BARROS, 2016). Quando os animais comem pequenas quantidades diárias de plantas com alcaloides pirroolidínicos ocorre um período latente em relação ao aparecimento dos sinais clínicos, isso se relaciona a progressão lenta e incipiente, porém progressiva, e os sinais clínicos só se manifestariam mais tarde quando a lesão hepática é suficientemente grave (TOKARNIA E DÖBEREINER, 1984). Os parâmetros clínicos vitais dos bovinos 4 e 5 se mantiveram dentro dos padrões de normalidade, como descrito para bovinos leiteiros (BACCARI Jr., 1971; FERREIRA *et al.*, 2006) durante até o dia 87 após oNesses casos crônicos é comum que animais, apesar de apresentaram graves lesões hepáticas, os apresentam sinais clínicos muito tempo após a ingestão da planta (BARRI E ADAM, 1981; TOKARNIA E DÖBEREINER, 1984).

Neste estudo, tanto na intoxicação espontânea como na experimental a principal lesão foi observada no fígado e se caracterizou por fibrose hepática com megalocitose, desorganização acentuada dos cordões hepatocelulares e proliferação de canalículos biliares.

As alterações pulmonares descritas neste caso são frequentemente descritas na intoxicação crônica por plantas do gênero *Crotalaria*, acompanhadas ou não de lesão hepática (NOBRE *et al.*, 1994; BOGHOSSIAN *et al.*, 2007; BOTHA *et al.*, 2012; PESSOA *et al.*, 2013; PIRES *et al.*, 2015). Por outro lado, são descritos casos de intoxicação por *C. mucronata* em que a evolução clínica da doença é aguda e as

lesões são exclusivamente pulmonares e caracterizadas por edema acentuado e difuso (LAWS, 1968; TOKARNIA e DÖBEREINER, 1982; BORELLI *et al.*, 2016).

Neste estudo, nos casos naturais ainda foi observado ainda lesões renais que, apesar de infrequentes, são descritas na intoxicação por *C. spectabilis* em bovinos (SANDERS *et al.*, 1936), *C. retusa* em suínos (HOOPER, 1977) e por *C. spectabilis* em suínos (MCGRATH e DUNCAN, 1975; TORRES *et al.*, 1997) e caprinos (PIRES *et al.*, 2015) bem como em animais intoxicados por *Senecio* spp (BARROS *et al.*, 1987; ILHA *et al.*, 2001). Na intoxicação experimental não havia alteração renal significativa.

Alguns autores pressupõem que as alterações morfológicas, no encéfalo, observadas na intoxicação por plantas do gênero *Crotalaria* se devem à neurotoxicidade direta de seu princípio ativo (PITANGA *et al.*, 2011; PITANGA *et al.*, 2012). No entanto, as vacuolizações do encéfalo observadas nesse caso são frequentemente descritas em doenças hepáticas crônicas associadas à encefalopatia hepática. *Status spongiosus* ocorre secundariamente à hiperamonemia decorrente do dano hepático. A amônia provoca edema intramielínico formando vacúolos na substância branca do encéfalo (KELLY, 2007; EELCO e WIJDICKS, 2016).

A principal substância tóxica presente em *C. spectabilis* é um alcaloide pirroolidinico (AP) denominada monocrotalina (MNC) (NEAL *et al.*, 1935). APs são um grupo de alcaloides derivados da ornitina. Eles raramente ocorrem na forma livre como uma base pirroolidina, são mais frequentemente encontrados como ésteres (monoésteres, diésteres ou ésteres macrocíclicos) formados por uma base necina (amino álcoois) e um ou mais ácidos nécicos (ácidos alifáticos mono ou dicarboxílicos), os quais são responsáveis por sua diversidade estrutural. Eles normalmente são encontrados na forma de bases terciárias de alcaloides pirroolidinicos N-óxidos. De acordo com a estrutura da base necina, os APs podem ser classificados em quatro grupos: Retronecina, Heliotridina, Otonecina e Platinecina (MATTOCKS, 1986; CHEEKE, 1988; MOREIRA *et al.*, 2018). MNC é um AP do tipo retronecina e, como muitos APs, não é quimicamente reativo, sendo, após a ingestão, absorvida no trato gastrointestinal, chega à corrente sanguínea e aproximadamente 80%, dela é excretada pela urina, fezes ou leite sem ser metabolizada (MOREIRA *et al.*, 2018). A maior parte da bioativação ocorre no fígado e, desse modo, como vimos neste estudo, este órgão é o mais frequentemente afetado nos casos de intoxicação (MATTOCKS, 1986; CHEEKE, 1988; HUXTABLE,

1990; FU *et al.*, 2004). Existem três vias principais para o metabolismo de MNC: Hidrólise, N-oxidação e Dehidrogenação. As duas primeiras levam a formação de substâncias inócuas e são consideradas mecanismos de detoxificação, por outro lado, a dehidrogenação, modulada pelo complexo enzimático citocromo P-450, leva à formação de 1,2 dehidromonocrotalina, um diéster pirrólico altamente ativo (MATTOCKS, 1986; CHEEKE, 1988; HUXTABLE, 1990; FU *et al.*, 2004; BURROWS e TYRL, 2013; MOREIRA *et al.*, 2018). Os pirróis formados lesionam os hepatócitos se ligando irreversivelmente ao DNA (efeito alquilante) e impedem que ocorra mitose nos hepatócitos, embora a síntese de DNA e citoplasma permaneça. Isso causa um aumento no volume nuclear e citoplasmático dos hepatócitos chamado hepatomegalocitose (BULL, 1955; CHEEKE, 1988). Apesar de seu volume, o metabolismo dos megalócitos diminui consideravelmente (SEAWRIGHT *et al.*, 1991), e se ocorre mitose os hepatócitos morrem e são substituídos por tecido fibroso (CHEEKE, 1988; BURROWS e TYRL, 2013). Parte dos pirróis formados no fígado podem, através da circulação, e como observado nesse caso, causar lesões em outros órgão como pulmão ou rins (MATTOCKS, 1986; CHEEKE, 1988; HUXTABLE, 1990; FU *et al.*, 2004; BURROWS e TYRL, 2013; YAO, 2014; MOREIRA *et al.*, 2018).

6. CONCLUSÃO

As alterações observadas na intoxicação espontânea e experimental apresentaram aspectos morfológicos hepáticos crônicos similares, e corroborando com aspectos morfológicos relatados em outros animais com outras espécies de crotalárias.

7. REFERÊNCIAS

- BARRI, M.E.S. & ADAM, S.E.I. The toxicity of *Crotalaria saltiana* to calves. *J. Comp. Path.* 91: 621-627, 1981.
- BARROS, C.S.L. Fígado, vias biliares e pâncreas exócrino. In: Santos R.L. & Alessi A.C. (Eds), *Patologia Veterinária*. 2ª ed. Roca, Rio de Janeiro. 842p., p.181-265, 2016.

- BARROS, C.S.L; METZDORF, L.L; PEIXOTO, P.V. Ocorrência de surtos de intoxicação por *Senecio* spp. (Compositae) em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 7(4):101-107, 1987.
- BECKER, R.B; NEAL, W.M; ARNOLD, P.T.D; SHEALY, A.L. A study of the payability and possible toxicity of 11 species of *Crotalaria* especially of *C. spectabilis*. *J. Agric. Res.*, 50: 911-922, 1935.
- BOGHOSSIAN, M.R; PEIXOTO, P.V; BRITO, M.F; TOKARNIA, C.H. Aspectos clínico-patológicos da intoxicação experimental pelas sementes de *Crotalaria mucronata* (Fabaceae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 27(4):149-156, 2007.
- BORELLI, V. Intoxicação espontânea e experimental por folhas verdes de *Crotalaria* (mucronata) pallida em ovinos. Tese de Doutorado. *Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages, SC.* 53p., 2015.
- BORELLI, V; CARDOSO, T.C; BIFFI, C.P; WICPOLT, N; OGLIARI, D; SAVARI, T; TRAVERSO, S.D; GAVA, A. Intoxicação experimental por folhas de *Crotalaria pallida* (mucronata) em ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 36(10), 935-938, 2016. <https://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x2016001000003>
- BOTHA, C.J; LEWIS, A; DU PLESSIS, E.C; CLIFT, S.J; WILLIAMS, M.C. *Crotalaria*osis equorum ("jaagsiekte") in horses in southern Mozambique, a rare form of pyrrolizidine alkaloid poisoning. *J Vet Diagn Invest.* Nov;24(6):1099-104, 2012. doi: 10.1177/1040638712460673.
- BULL, L.B. The histological evidence of liver damage from pyrrolizidine alkaloids. *Australian Vet. J.* 31: 33-40, 1955.
- BURROWS, G.E; TYRL, R.J. Toxic plants of north america, second ed. Wiley-Blackwell, Ames, IA, United States, 2013.
- CHEEKE, P.R. Toxicity and metabolism of pyrrolizidine alkaloids, *J. Anim. Sci.*, 66, 2343, 1988.
- CULLEN, J.M. Liver, biliary system, and exocrine pancreas, p.393-461. In: McGavin M.D. & Zachary J.F. (ed.), *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 4th ed. Mosby Elsevier, St Louis, 1476p, 2007.

DEBIASI, H; FRANCHINI, J.C; DIAS, W.P; RAMOS JUNIOR, E.U; BALBINOT JUNIOR, A.A. Práticas culturais na entressafra da soja para o controle de *Pratylenchus brachyurus*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 51(10), 1720-1728, 2016. <https://dx.doi.org/10.1590/s0100-204x2016001000003>.

EELCO, F.M; WIJDICKS, E.F. Hepatic encephalopathy. *N Engl J Med*. 375:1660-1670, 2016.

EMMEL, M.W; SANDERS, D.A; HENLEY, W.W. *Crotalaria spectabilis* Roth. Seed Poisoning in Swine. *J. Am. vet. med. Ass.*, 86, 43, 1935.

FERREIRA, F; PIRES, M.F.A; MARTINEZ, M.L; COELHO, S.G; CARVALHO, A.U; FERREIRA, P.M; FACURY FILHO, E.J; CAMPOS, W.E. 2006. Parâmetros fisiológicos de bovinos cruzados submetidos ao estresse calórico. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* vol.58 no.5. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352006000500005>

FLETCHER, M.T; HAYES, P.Y; SOMERVILLE, M.J; DE VOSS, J.J. *Crotalaria medicaginea* associated with horse deaths in northern Australia: new pyrrolizidine alkaloids. *J Agric Food Chem.* Nov. 9;59(21):11888-92, 2011. doi: 10.1021/jf203147x.

FU, P.P; XIA, Q; LIN, G; CHOU, M.W. Pyrrolizidine alkaloids: genotoxicity, metabolism enzymes, metabolic activation, and mechanisms. *Drug Metab Ver.*36:1-55, 2004.

HUXTABLE, R.J. Activation and pulmonary toxicity of pyrrolizidine alkaloids (T. E. Gram, special ed.). *Pharmacol. Ther.*, 47: 371-389, 1990.

HOOPER, P.T; SCANLAN, W.A. *Crotalaria retusa* poisoning of pigs and poultry, *Aust. Vet. J.*, 53,109, 1977.

ILHA, M.R.S; LORETTI, A.P; BARROS, S.S; BARROS, C.S.L. Intoxicação espontânea por *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) em ovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 21,123-138, 2001.

KARAM, F.C; SCHILD, A.L; MELLO, J.R.B. Intoxicação por *Senecio spp.* em bovinos no Rio Grande do Sul: condições ambientais favoráveis e medidas de controle. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 31(7), 603-609, 2011. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2011000700010>.

KARAM, F.S.C; SOARES, M.P; HARAGUCHI, M. RIET-CORREA, F; MÉNDEZ, M.C; JARENKOW, J.A. Aspectos epidemiológicos da seneciose na região sul do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 24(4):191-198, 2004.

KELLY, W.R. Liver and biliary system, p.319-406. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (ed.), *Pathology of Domestic Animals*. Vol.2. 4th ed. Academic Press, San Diego. 747p, 2007.

LAWS, L. Toxicity of *Crotalaria mucronata* to sheep. *Aust. Vet. J.* 44(10):453-455, 1968.

LEMONS, R.A.A; DUTRA, I.S; SOUZA, G.F; NAKAZATO, L; BARROS, C.S.L. Intoxicação espontânea por *Crotalaria mucronata* em bovinos em Minas Gerais. *Arqs Inst. Biológico*, São Paulo, 64:46, 1997.

LUNA, I.G. editor. *AFIP Manual of Histologic Staining Techniques*. 3rd ed. McGraw-Hill Publications; New York: p. 160, 1968.

MAIA, L.A. Intoxicação por *Crotalaria retusa* em pequenos ruminantes. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB. 56p, 2013.

MARLOWE, T. J.; FREUND, R. J.; GRAHAM, J. B. Influence of age, breed, flesh condition, nursing, and season on weight and grade of beef cattle. *Journal of Animal Science*, v.21, p.346-354, 1962.

MATTOCKS, A.R. Chemistry and toxicology of pyrrolizidine alkaloids. *London, Orlando Fla: Academic Press*, 1986.

MCGRATH, J.P; DUNCAN, J.R; MUNNELL, J.F. *Crotalaria spectabilis* toxicity in swine: characterization of the renal glomerular lesion. *J Comp Pathol.* Apr; 85(2):185-94, 1975.

MÉNDEZ, M.C; RIET-CORREA, F; SCHILD, A.L; GARCIA, J.T.C. Intoxicação por *Echium plantagineum* (Boraginaceae) em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 5:57-64, 1985.

MOREIRA, R; PEREIRA, D.M; VALENTÃO, P; ANDRADE, P.B. Pyrrolizidine Alkaloids: Chemistry, Pharmacology, Toxicology and Food Safety. *International journal of molecular sciences*, 19(6),1668, 2018. doi:10.3390/ijms19061668.

NEALW, M; RUSOFF, L.L; AHMANN, C.F. The isolation and some properties of an alkaloid from *Crotalaria spectabilis* (Roth). *J. Am. Chem. SOC.* 57: 25-61, 1935.

NOBRE, D; DAGLI, M.L.Z; HARAGUCHI, M. *Crotalaria juncea* intoxication in horses. *Vet. Hum. Toxicol.* 36, 445-448, 1994.

NOBRE, V.M.T; DANTAS, A.F.M; RIET-CORREA, F; BARBOSA FILHO, J.M; TABOSA, I.M; VASCONCELOS, J.S. Acute intoxication by *Crotalaria retusa* in sheep. *Toxicon* 45(3):347-352, 2005.

NOBRE, V.M.T; RIET-CORREA, F; DANTAS, A.F.M; TABOSA, I.M; MEDEIROS, R.M.T; BARBOSA FILHO, J.M. Intoxication by *Crotalaria retusa* in ruminants and Equidae in the state of Paraíba, northeastern Brazil. In: Acamovich T., Stewart C.S., Pennycott T.W. (Eds.), *Plant Poisoning and Related Toxins*. CAB International, Glasgow, pp. 275-279, 2004a.

NOBRE, V.M.T; RIET-CORREA, F; BARBOSA FILHO, J.M; TABOSA, I.M; VASCONCELOS, J.S. Intoxicação por *Crotalaria retusa* (Fabaceae) em eqüídeos no semi-árido da Paraíba. *Pesq. Vet. Bras.* 24, 132-143, 2004b.

PESSOA, C.R.M; PESSOA, A.F.A; MAIA, L; MEDEIROS, R.M.T; COLEGATE, S.M; BARROS, S; PEREIRA SOARES, M; BORGES, A; CORREA PEÑUELA, J. Pulmonary and hepatic lesions caused by the dehydropyrrolizidine alkaloid-producing plants *Crotalaria juncea* and *Crotalaria retusa* in donkeys. *Toxicon*:71. 10.1016/j.toxicon, 2013.

PIERCY, P.L; RUSOFF, L.L. *Crotalaria spectabilis* poisoning in Louisiana livestock. *J Am Vet Med Assoc.* Feb;108:69-73, 1946.

PIEREZAN, F; OLIVEIRA FILHO, J.C; CARMO, P.M; LUCENA, R.B; RISSI, D.R; TOGNI, M; BARROS, C.S.L. Surto de alatoxicose em bezerros no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 30(5):418-422, 2010.

PIRES, A.P.C; OLIVEIRA, M.C; BRAGA, K.M; MALAFAIA, P.B; JANNE, P.N; TOKARNIA, C.H; BRITO, M.F. Estudo sobre a sensibilidade dos caprinos à toxidez de crotalárias tóxicas para bovinos visando a sua utilização na profilaxia. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 35(6), 501-512, 2015. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2015000600003>.

PITANGA, B.P; SILVA, V.D; SOUZA, C.S; JUNQUEIRA, H.A; FRAGOMENI, B.O; NASCIMENTO, R.P; SILVA, A.R; COSTA, M.F; EL-BACHÁ, R.S; COSTA, S.L. Assessment of neurotoxicity of monocrotaline, an alkaloid extracted from *Crotalaria retusa* in astrocyte/neuronco-culture system. *Neurotoxicology*. 32, 776ñ784, 2011.

PITANGA, B.P; NASCIMENTO, R.P; SILVA, V.D; COSTA, S.L. The Role of Astrocytes in Metabolism and Neurotoxicity of the Pyrrolizidine Alkaloid Monocrotaline, the Main Toxin of *Crotalaria retusa*. *Frontiers in pharmacology*, 3, 144, 2012. doi:10.3389/fphar.2012.00144.

PROPHET, E.B; MILLS, B; ARRINGTON, J.B; SOBIN, L.H. Laboratory Methods in Histotechnology. *American Registry of Pathology, Armed Forces Institute of Pathology*, Washington, DC. 279p, 1992.

RESOLUÇÃO CFMV N°1000/2012. Disponível em: <http://portal.cfmv.gov.br/lei/index/id/326>.

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

SANDERDS, A; SHEALE, A.L; EMMEL, Y.M.W. Pathology of *Crotalaria spectabilis* (Roth) poisoning in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 89: 150-156, 1936.

SEAWRIGHT, A.A; HRDLICKA, J; WRIGHT, J.D; KERR, D.R; MATTOCKS, A.R; JUKES, R. The identification of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloid exposure in horses by the demonstration of sulphur-bound pyrrolic metabolites on their hemoglobin. *Vet Hum Toxicol*. Jun;33(3):286-7, 1991.

STEGELMEIER, B.L. Pyrrolizidine alkaloid-containing toxic plants (Senecio, *Crotalaria*, *Cynoglossum*, *Amsinckia*, *Heliotropium*, and *Echium* spp.). *Vet. Clin. North Am.*, Food Anim. 27(2):419-428, 2011.

STEYN, D.G. The toxicology of plants of South Africa. Centrei News Agency, South Africa. *Onderstepoort Journal of Veterinary Science and Animal Industry*. Oct. V. 3: N. 2, 1934.

THOMAS, E.W; NEAL, W.M; AHMANN, C.F. The toxicity of *Crotalaria spectabilis* (Roth) to livestock and poultry. *J. Amer. Soc. Agron*. 27:499-500, 1935.

- TOKARNIA, C.H; BARBOSA, J.D; PEIXOTO, P.V; DÖBEREINER, J. Plantas Tóxicas do Brasil. 2. ed. Rio de Janeiro: Helianthus. (1):586p, 2012.
- TOKARNIA, C.H; DÖBEREINER, J. Intoxicação experimental por *Crotalaria mucronata* (Leg. Papilionoideae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 2(2):77-85, 1982.
- TOKARNIA, C.H; DÖBEREINER, J. Intoxicação experimental por *Crotalaria anagyroides* (Leg. Papilionoideae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 3(4):115-123, 1983.
- TOKARNIA, C.H; DÖBEREINER, J. Intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* (Compositae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* v.4:36-65, 1984.
- TORRES, M.B.A.M; SALLES, M.W.S; HEADLEY, A.S; BARROS, C.S.L. Intoxicação experimental por sementes de *Crotalaria spectabilis* (Leguminosae) em Suínos. *Ciência Rural* 27(2):307-312, 1997.
- UBIALI, D.G; BOABAID, F.M; BORGES, N.A; CALDEIRA, F.H.B; LODI, L.R; PESCADOR, C.A; SOUZA, M.A; COLODEL, E.M. Intoxicação aguda com sementes de *Crotalaria spectabilis* (Leg. Papilionoideae) em suínos. *Pesq. Vet. Bras.* 31(4):313-318, 2011. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2011000400007>.
- YAO, J; LI, C.G; GONG, L.K; FENG, C.C; LI, C.Z; GAO, M; LUAN, Y; QI, X.M; REN, J. Hepatic cytochrome P450s play a major role in monocrotaline-induced renal toxicity in mice. *Acta Pharmacol. Sin.* 35: 292-300, 2014.

APENDICE A ã ARTIGO CIENTÍFICO

Intoxicação espontânea e experimental por *Crotalaria spectabilis* (Fabaceae) em bovinos

Marlon Ribeiro¹, Isadora N. Bianchi¹, Lucas A. D. Pavelegini¹, João G. M. Silva¹, Quelvia A. dos Santos¹, Carolina Zorzo¹, Edson M. Colodel¹, Fernando F. H. Furlan¹

ABSTRACT.- Ribeiro M., Bianchi I.N., Pavelegini L.A.D., Silva J.G.M., Santos Q. A., Zorzo, C., Colodel E.M., Furlan F.H.F. 2020. **[Spontaneous and experimental poisoning by *Crotalaria spectabilis* (Fabaceae) in cattle.]** Intoxicação espontânea e experimental por *Crotalaria spectabilis* (Fabaceae) em bovinos. Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso, Av. Fernando Corrêa da Costa 2367, Boa Esperança, Cuiabá, MT 78060-900, Brazil. E-mail: marlonribeiro86@gmail.com

Epidemiological, clinical and morphological findings of spontaneous and experimental poisoning by *Crotalaria spectabilis* in cattle are described. Spontaneous intoxication occurred on a Property in the municipality of Sapezal, Mato Grosso (MT), 20 days after the introduction of a bovine herd in a paddock invaded by *C. spectabilis*, six of which became ill and died and one of them was submitted to necropsy. The rest of the animals were transferred to pastures, free from *Crotalaria* spp on a property in the municipality of São José do Rio Claro, MT. Among the cattle transferred, over the course of 45 days, 35 animals fell ill and 15 died, two of which underwent necropsy. The signs observed were weight loss, jaundice, decubitus, pedaling movements and death. The main macroscopic changes were observed in the liver, which was firm and yellowish with irregular whitish areas. Microscopically, hepatic changes involved coalescing periacinar fibrosis, megalocytosis, microvacuolar degeneration and cholestasis. Vascular lesions with different intensities were observed in the lung and kidney of the three cattle. In the brain there was status spongiosus in two cattle. The disease was reproduced experimentally in cattle through the oral administration of seeds of *Crotalaria spectabilis* at a dose of 1g / kg / day for 30 days. Clinical signs were observed 87 days after ingestion of the first dose and death occurred two days after the onset of clinical signs in both animals. The clinical and macroscopic signs observed were similar to those observed in spontaneous intoxication

INDEX TERMS: Bovine diseases, *Crotalaria spectabilis*, Pyrazolidinic alkaloids, Monocrotaline, Hepatic fibrosis.

Resumo: São descritos os achados epidemiológicos, clínicos e morfológicos da intoxicação espontânea e experimental por *Crotalaria spectabilis* em bovinos. A intoxicação espontânea ocorreu em uma Propriedade no município de Sapezal, Mato Grosso (MT), após 20 dias da introdução de um rebanho bovino em um piquete invadido por *C. spectabilis* sendo que seis bovinos adoeceram e morreram e um deles foi submetido à necropsia. O restante dos animais foi transferido para pastos, livres de *Crotalaria* spp em uma propriedade no Município de São José do Rio Claro, MT. Dentre os bovinos transferidos, no decorrer de 45 dias, 35 animais adoeceram e 15 morreram, sendo dois submetidos a necropsia. Os sinais observados foram perda de peso, icterícia, decúbito, movimentos de pedalagem e morte. As principais alterações macroscópicas foram observadas no fígado que apresentava-se firme e amarelado com áreas irregulares brancacentas. Microscopicamente as alterações hepáticas envolviam fibrose periacinar a coalescente, megalocitose, degeneração microvacuolar e colestase. Lesões vasculares com diferentes intensidades foram observadas em pulmão e rim dos três bovinos. No encéfalo havia *Status spongiosus* em dois bovinos. A doença foi reproduzida experimentalmente em bovinos através da administração via oral de sementes de *Crotalaria spectabilis* na dose de 1g/kg/dia por 30 dias. Os sinais clínicos foram observados 87 dias após a ingestão da primeira dose e a morte ocorreu dois dias após o início dos sinais clínicos em ambos os animais. Os sinais clínicos e macroscópicos observados foram similares aos observados na intoxicação espontânea.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Doenças de Bovinos, *Crotalaria spectabilis*, Alcaloides Pirrozolidínicos, Monocrotalina, Fibrose Hepática.

Introdução: Espécies do gênero *Crotalaria* (Leg. Papilionoideae) são leguminosas muito utilizadas na agricultura para cobertura do solo e rotação de culturas, uma vez que promovem fixação de nitrogênio no solo e auxiliam no combate aos nematoides que causam lesões radiculares (Debisi et al. 2016), porém, também são invasoras de plantações e pastagens e podem causar intoxicação em animais de interesse pecuário (Tokarnia et al. 2012).

Numerosas espécies de *Crotalaria* são responsáveis por intoxicações em animais domésticos: *C. burkeana*, *C. spectabilis*, *C. retusa*, *C. pallida* (*C. mucronata*) para bovinos (Steyn 1934, Becker et al. 1935, Thomas et al. 1935, Sanders et al. 1936, Piercy & Rusoff 1946, Emmel 1948, Lemos et al. 1997, Nobre et al. 2004a), *C. globifera*, *C. dura*, *C. retusa*, *C. medicaginea*, *C. juncea* para equinos (Steyn 1934, Fletcher et al. 2011, Nobre et al. 2004a,

2004b, Botha et al. 2012); *C. globifera*, *C. duram*, *C. retusa*, *C. pallida* (*C. mucronata*) para ovinos (Steyb 1934, Nobre et al. 2004a, Dantas et al. 2005, Nobre et al. 2005, Riet Correa et al. 2011, Borelli et al. 2015), *C. spectabilis* para suínos (Ubiali et al., 2011), *C. retusa* para suínos (Hooper & Scanlan 1977) e caprinos (Maia et al. 2013).

Dentre as plantas do gênero, a *Crotalaria spectabilis* é considerada a espécie mais tóxica (Burrows & Tyrl 2013) e foi descrita causando lesões hepáticas em bovinos (Sanders et al. 1936, Piercy e Rusoff 1946, Emmel 1948) e suínos (Ubiali et al. 2011). O princípio ativo mais importante é o alcaloide pirrolizidínico (AP) retronecina denominado monocrotalina (MNC) que após a ingestão, pode ser dehidrogenada em hepatócitos pelo complexo enzimático citocromo P-450, formando diésteres pirrólicos ativos (Mattocks 1986, Cheeke 1988, Huxtable 1990, Fu et al. 2004, Burrows & Tyrl 2013, Moreira et al. 2018), os quais se ligam irreversivelmente ao ácido nucleico (Burrows & Tyrl 2013), especialmente em hepatócitos, pulmão ou rins, e que mesmo sem interferência significativa na síntese de DNA, inibem a mitose destas células (Burrows & Tyrl 2013, Yao 2014, Moreira et al. 2018). Em hepatócitos causam acentuado aumento de volume nuclear e citoplasmático, resultando em hepatomegalocitose (Bull 1955, Cheeke 1988). Com a morte dos hepatócitos há substituição por tecido fibroso (Cheeke 1988, Burrows e Tyrl 2013), assim, a intoxicação se manifesta de uma forma aguda, na qual se observa necrose hepatocelular zonal, predominantemente centrolobular ou de forma crônica, caracterizada predominantemente por fibrose hepática (Sanders et al. 1936, Piercy & Rusoff 1946, Emmel 1948, Ubiali et al. 2011). Esse trabalho descreve os aspectos epidemiológicos, clínicos e anatomopatológicos de um surto de intoxicação espontânea por *C. spectabilis* em bovinos, e avaliar os aspectos clínicos, anatomopatológicos e toxicológicos da intoxicação experimental por de sementes de *C. spectabilis* em bovinos.

Materiais e Métodos: Históricos e dados epidemiológicos foram obtidos *in loco*, durante visita técnica realizada pela equipe do Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da Universidade Federal de Mato Grosso, Campus Cuiabá (UFMT) e junto ao veterinário que presta serviços às duas propriedades onde ocorreu a doença nos municípios de Sapezal, MT (propriedade A) e São José do Rio Claro, MT (Propriedade B). Na propriedade, o veterinário os dados levantados foram quanto a idade, raça, origem, finalidade, alimentação, fonte de água, manejo de pastagem, condições climáticas, composição dos lotes, tamanho dos piquetes e cultivos que antecederam o plantio da pastagem presente nos piquetes. Adicionalmente, durante a visita foi realizado inspeção de pastagem, ração e água em ambas as propriedades. Quando necessário, procedeu-se com eutanásia segundo Resolução CFMV N°1000/2012, seguido de necropsia, coleta sistemática de amostras do sistema nervoso central, hipófise, pulmão tireóide, coração, fígado, baço, rins, adrenais, intestinos, sistema linfático, músculo esquelético, pâncreas, glândula salivar. As amostras coletadas foram fixadas em solução de formalina 10% tamponada e processadas rotineiramente, corados pelas técnicas de Hematoxilina e Eosina (HE) e para evidencição da deposição de colágeno no parênquima hepático utilizou a coloração Tricrômico de Masson (Prophet et al., 1992) para avaliação em microscopia ótica. Adicionalmente, após investigação na propriedade B, seguiu novamente para a propriedade A, onde foi realizada coleta de plantas e encaminhadas ao Herbário Central da UFMT, onde foram identificadas como *Crotalaria spectabilis* no sob o número de protocolo 44306.

Para a intoxicação experimental, o projeto aprovado, sob o protocolo 23108.918801/2017-87, pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Mato Grosso. As sementes foram obtidas em uma sementeira localizada no município de Nova Xavantina – MT, que cultivam exclusivamente essa espécie de *Crotalaria* entre as principais safras. As sementes foram trituradas em macro moinho (Macro Moinho Nova Organica®, Brasil) e armazenadas congeladas para fornecimento aos bovinos.

Para esse estudo foram selecionados, em uma propriedade livre de *Crotalaria* spp, localizada no município de Santo Antonio de Leverger, quatro bovinos jovens de aptidão leiteira, machos, ruminantes ativos, com 12 meses de idade e sem raça definida, que se encontravam dentro dos padrões considerados normais para a espécie ao hemograma completo e perfil bioquímico (Alanina Aminotransferase (ALT), Gama Glutamiltransferase (GGT), bilirrubina total (BT) e bilirrubina direta (BD)). Para realização do perfil bioquímico o tubo foi abrigado da luz com papel alumínio imediatamente após a retração do coágulo, as amostras foram centrifugadas a 3.500 rpm, por 10 minutos. O soro obtido foi processado e analisado no mesmo dia em analisador bioquímico Wiener CM200 (Wiener Lab., Rosário, Argentina), por meio de kits comerciais Wiener Lab® para AST, GGT, BT e BD.

Os bovinos selecionados foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos contendo dois animais cada. Os bovinos foram alocados em piquetes medindo 160m², pesados e adaptados durante o período de 7 dias, com alimentação a base de feno de Tifton, silagem de milho, ração, sal mineral e água *ad libitum*. O primeiro grupo (Bovinos 4 e 5) recebeu, como complemento da dieta, 1g/kg/dia, durante trinta dias, sementes de *Crotalaria spectabilis* trituradas via oral durante. O segundo grupo (Bovinos 6 e 7) não recebeu complemento de dieta. Os grupos foram monitorados clinicamente diariamente, do dia 0 ao dia 60 quanto à presença ou ausência de sinais clínicos como: apatia, prostração, dificuldade de locomoção, edema de barbeta ou partes baixas, anorexia, decúbito e alterações de parâmetros vitais (frequência cardíaca e frequência respiratória), coloração de mucosas e tempo de preenchimento capilares (TPC) e pesados semanalmente. Após esse período, os animais passaram a ser monitorados visualmente diariamente e os parâmetros clínicos aferidos semanalmente. Os bovinos que morreram durante período de experimentação foram submetidos à necropsia, coleta sistemática e

processamento rotineiro para análise em microscopia ótica como descrito anteriormente. Para análise dos resultados a fim de comparação das alterações entre os casos foi empregada a estatística descritiva das variáveis obtidas.

Resultados: Intoxicação espontânea: A intoxicação espontânea ocorreu entre os meses de Agosto e Outubro do ano de 2017, em duas propriedades rurais, a primeira localizada no município de Sapezal, MT (propriedade A) e a segunda localizada no município de São José do Rio Claro, MT (Propriedade B). Na propriedade A, onde se faz recria de bezerros, o médico veterinário da fazenda relatou que um lote de 200 bovinos foi introduzido em um piquete de 125 hectares formado por *Brachiaria brizantha* intensamente invadido por plantas do gênero *Crotalaria*. Nesta propriedade utiliza-se o sistema integração lavoura/pecuária e, no ano anterior ao plantio da pastagem (2016), houve plantio de milho em consórcio com *Crotalaria spectabilis* com o objetivo para combate aos nematoides das lesões radiculares, fixação de nitrogênio e adubação verde. Após o plantio da pastagem houve a germinação de sementes que permaneceram viáveis após a incorporação da matéria verde ao solo. Na época que os bovinos foram introduzidos nos piquetes a *Crotalaria* spp se encontrava na fase de floração e/ou produção de vagens (verificado *in loco* após a investigação na propriedade B). Após um período de 20 dias nesta pastagem, seis bovinos (3%) adoeceram apresentando perda de peso, icterícia moderada, decúbito com movimentos de pedalagem e morreram rapidamente e um bovino (Bovino 1) foi submetido à necropsia pelo veterinário da fazenda, e fragmentos de fígado, rim, pulmão, coração e encéfalo foram encaminhados para análise no Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT). Considerando as lesões hepáticas observadas durante a necropsia, o médico veterinário que dava assistência à propriedade atribuiu a mortalidade daqueles bovinos ao consumo de *Crotalaria* spp e recomendou que os bovinos restantes, que se encontravam nos piquetes invadidos pela planta, fossem para transferidos para outra propriedade.

A Propriedade B faz terminação de bovinos em sistema de semiconfinamento, compondo lotes com aproximadamente 150 bovinos oriundos de diversas fazendas de acordo com a rotina de compra de gado daquele grupo empresarial. Nesta propriedade, os bovinos eram todos lotados em piquetes formados por *Brachiaria brizantha* e, adicionalmente, recebiam ração batida na propriedade com núcleo concentrado, que era diretamente fornecido no cocho e água *ad libitum*. Em um desses lotes, no período de 45 dias a partir da data de introdução dos animais ao semiconfinamento, adoeceram 35 bovinos (23,3%). Estes animais apresentaram perda de peso com escore corporal variando entre 1 e 2 em uma escala de 1 a 5 (Marlowe et al. 1962), icterícia e aumento de volume abdominal e dentre os animais doentes, 15 bovinos morreram (10%) e um (Bovino 2) também foi submetido à necropsia pelo médico veterinário que dá assistência à propriedade, com fragmentos encaminhados ao LPV/UFMT, e após deslocar uma equipe para a propriedade B, um outro bovino (Bovino 3) foi submetido à eutanásia *in Extremis* seguido de necropsia pela equipe do LPV-UFMT. Durante a investigação, da mortalidade que ocorreu na Propriedade B não foram encontrados fatores que pudessem ser responsáveis pelo quadro observado nos animais, e ao levantar a origem do lote de bovinos, verificou-se que todos os bovinos que adoeceram e morreram na propriedade B eram oriundos da propriedade A. Procedeu-se então a visita a campo na propriedade A para coleta de plantas *in loco* para classificação da espécie de *Crotalaria* spp. Os demais animais foram alocados em outros piquetes e neles não foram observados sinais clínicos como descritos nos demais animais expostos à *Crotalaria spectabilis*.

À necropsia as lesões observadas nos bovinos 1, 2 e 3 foram semelhantes e variaram apenas em intensidade. Notou-se baixa condição corporal; o fígado apresentava-se com volume diminuído e com superfície capsular levemente irregular. Na superfície capsular e de corte se observou áreas amarelo-brancacentas com consistência firme e distribuição aleatória multifocal a coalescente. Na cavidade abdominal havia aproximadamente 6 litros de líquido amarelado e translúcido (ascite). O pulmão não estava colabado, tinha consistência fibroelástica e era levemente hipocriptante.

Microscopicamente as principais lesões foram observadas no fígado e, em menor intensidade, nos pulmões, rins e sistema nervoso central (SNC). As lesões hepáticas foram semelhantes e se caracterizam por proliferação de tecido fibroso que substituiu grande parte do parênquima hepático e provocava desarranjo dos sinusóides hepáticos ou substituiu o parênquima hepático em diferentes intensidades, com menor intensidade no bovino 1 e acentuada intensidade no bovino 2 e 3. Essa lesão era predominantemente centrolobular no Bovino 1 e multifocal a coalescente nos bovinos 2 e 3, e a disposição de colágeno dada pela fibrose hepática foram evidenciadas pela coloração Tricômico de Masson. Os hepatócitos remanescentes apresentavam degeneração citoplasmática microvacuolar e frequentemente se observava megalocitose. Havia ainda moderada a intensa colestase e, na região portal, notou-se proliferação moderada a acentuada de ductos biliares e hiperplasia do epitélio ductal. Verificou-se no Bovino 1 ausência de hepatócitos na região centrolobular acompanhada de dilatação do sinusóides hepáticos e fibrose leve a moderada, e por vezes essa lesão se estendia até a região mediozonal ou à região centrolobular adjacente.

Nos pulmões dos três bovinos havia lesões de arteríolas e no parênquima pulmonar. As lesões vasculares foram caracterizadas por espessamento das células endoteliais da túnica íntima, degeneração vacuolar leve a moderada nas fibras musculares e maior espaçamento de fibras na túnica média, levando ao espessamento dessa camada e diminuição da luz do vaso que em alguns casos ficavam obliterados pelas células

endoteliais espessadas. Por vezes se notou ainda leve a moderado infiltrado linfoplasmocitário. Já na túnica adventícia notou-se moderado a intenso espaçamento entre as fibras muitas vezes causando aspecto desorganizado nesta camada. No parênquima pulmonar havia infiltrado linfoplasmocitário leve a moderado acompanhado de edema e megalocitose. Essas alterações levavam ao espessamento dos septos interalveolares. Nos rins havia lesões glomerulares, tubulares e em arteríolas da região corticomedular. Os corpúsculos renais estavam ingurgitados por espessamento do mesângio e leve espessamento das membranas basais de capilares glomerulares, adicionalmente, no espaço de Bowman havia leve deposição de material amorfo e hialino. Nas arteríolas da junção corticomedular havia espessamento moderado a acentuado entre as fibras musculares. No telencéfalo, tálamo, hipotálamo, hipocampo, mesencéfalo, medula oblonga, cerebelo e medula espinhal havia vacuolização de intensidade variada que se na substância branca e junção com substância cinzenta (*Status spongiosus*). As lesões foram leves no Bovino 1 e moderadas no Bovino 3, no Bovino 2 o encéfalo não foi coletado.

Intoxicação experimental: O bovino 04 e 05 recebeu 146g/kg/dia e 110g/kg/dia, consecutivamente, de sementes trituradas durante trinta dias. Não houve a manifestação de sinais clínicos durante a experimentação. As alterações clínicas foram observadas a partir do dia 87 após o início da administração das sementes, e foram caracterizados por apatia, prostração, anorexia, emagrecimento progressivo, decúbito esternal, decúbito lateral e morreram após 48 e 52 horas, consecutivamente, decorridas do início dos sinais clínicos. Os bovinos 06 e 07, que não receberam complementação da dieta não apresentaram alterações clínicas.

Durante a necropsia do Bovino 4 apresentava escore corporal 2 (Marlowe et al. 1962), notou-se ascite (10 litros), mucosas oculares e serosas estavam levemente ictéricas, o fígado apresentava-se de coloração marrom amarelada intercalado com áreas avermelhadas e sua consistência à palpação era firme. A superfície de corte era irregular, de coloração amarelada e firme à palpação. A vesícula biliar estava repleta e com equimoses e sufusões. O pulmão apresentava áreas avermelhadas de consistência levemente firme e hipocreptantes à palpação. Nos demais órgãos não havia alterações macroscópicas dignas de nota. Já o Bovino 5 apresentou escore corporal 1 (Marlowe et al. 1962), fígado com tamanho reduzido, superfície capsular retraída e irregular, consistência firme à palpação e com padrão lobular evidente. A superfície de corte apresentava coloração vermelho escura e com áreas branco-amareladas irregulares. Os demais órgãos não apresentaram alterações.

Microscopicamente a principal lesão observada nos animais localizava-se no fígado e era caracterizada por proliferação centro lobular a coalescente de tecido fibroso e deposição de colágeno que substituiu o parênquima hepático e era acompanhada de desarranjo dos cordões hepatocelulares adjacentes. Os hepatócitos remanescentes apresentavam citoplasmas retraídos, fortemente eosinofílicos com degeneração microvacuolar, entre eles, frequentemente se observava megalocitose em diferentes intensidades. A proliferação de tecido fibroso e deposição de colágeno era melhor evidenciada através da coloração do Tricômico de Masson. Essa lesão foi acentuada no Bovino 4 e leve a moderada no Bovino 5. Havia ainda colestase leve a moderada e proliferação moderada a acentuada de ductos biliares. Adicionalmente, no Bovino 4 notou-se, nas artérias dos pulmões, espessamento leve e desorganização da túnica íntima caracterizado por aumento do espaçamento entre fibras musculares. No telencéfalo, tálamo, hipotálamo, hipocampo, mesencéfalo, medula oblonga, cerebelo e medula espinhal havia vacuolização (*Status spongiosus*) de intensidade variada na substância branca e junção com substância cinzenta.

Discussão: Frequentemente os casos de intoxicação espontânea por *Crotalaria* spp em herbívoros estão relacionados à alta infestação de pastagens pela planta, às vezes, associados à baixa disponibilidade de forragem (Sanders et al. 1936; Piercy e Rusoff. 1946; Nobre et al. 2004 a; Nobre et al. 2005; Riet Correa et al. 2011; Maia et al. 2013). Em suínos é comum que intoxicações ocorreram após o consumo de ração preparada com grãos contaminados por sementes de *Crotalaria* spp (Hooper e Scanlan 1977; Ubiali et al. 2011).

Neste estudo o fator determinante no consumo da planta pelos bovinos na intoxicação natural foi a introdução dos bovinos em piquetes de *Brachiaria brizantha* invadidos por *Crotalaria spectabilis*, que germinou após incorporação da planta ao solo, para preparação da pastagem. O consumo da planta pode estar atribuído a alta pressão de pastoreio exercido sobre a pastagem, o que resulta em rápida degradação da matéria verde volumosa tornando espécies invasoras, como a *Crotalaria spectabilis*, uma alternativa ao pastoreio do capim degradado.

Apesar de haver espécies de *Crotalaria* spp responsáveis por causar laminite em bovinos (Steyn 1934; Tokarnia 2012), ou ainda síndrome urêmica em suínos (Hooper e Scanlan 1977), a maioria das espécies descritas como tóxicas são responsáveis por quadros predominantemente hepáticos ou pulmonares (Tokarnia 2012). Em condições naturais, plantas do gênero *Crotalaria* são descritas como responsáveis por hepatopatia aguda em suínos (Ubiali et al. 2011), ovinos (Nobre et al. 2004b) e caprinos (Maia et al. 2013), e crônica em bovinos (Sanders et al. 1936; Emmel 1948; Piercy e Rusoff 1946), ovinos, equídeos e caprinos (Nobres et al. 2004a). Neste estudo, baseado nos achados clínicos e lesionais da intoxicação natural e nos dados clínicos cronológicos e lesionais da intoxicação experimental, a doença foi caracterizada como uma hepatopatia tóxica crônica.

Na intoxicação espontânea, de acordo com os dados epidemiológicos levantados os bovinos apresentaram os primeiros sinais clínicos entre 20 e 65 dias após início do consumo e o curso clínico da doença variou de subagudo a crônico. Em contra partida, o estudo experimental realizado demonstrou que os bovinos avaliados apresentaram os primeiros sinais clínicos aos 87 dias após o início da exposição às sementes, ao passo que o grupo controle não apresentou alterações clínicas. Estudos realizados em bovinos já demonstraram que *C. Spectabilis* provoca doença crônica entre 60 e 75 dias após a administração a bovinos (Sanders et al. 1936; Piercy e Rusoff 1946). Em outros experimentos realizados, em bovinos, utilizando *C. saltiana* e *C. anagryoides* os animais, de modo geral, adoeceram após consumir a planta por 7 dias a 9 meses, portanto em curso clínico variando de aguda a crônico (Barri e Adam 1981; Tokarnia e Döbereiner 1983). Bovinos intoxicados por plantas que contém alcaloides pirroolidínicos (AP) podem adoecer meses ou anos após terem ingerido a planta (Sanders et al. 1936; Tokarnia e Döbereiner 1984; Barros 2016). Quando os animais comem pequenas quantidades diárias de plantas com alcaloides pirroolidínicos ocorre um período latente em relação ao aparecimento dos sinais clínicos, isso se relaciona a progressão lenta e incipiente, porém progressiva, e os sinais clínicos só se manifestariam mais tarde quando a lesão hepática é suficientemente grave (Tokarnia e Döbereiner 1984). Os parâmetros clínicos vitais dos bovinos 4 e 5 se mantiveram dentro dos padrões de normalidade, como descrito para bovinos leiteiros (Baccari Jr. 1971; Ferreira et al. 2006) até o dia 87 após o dia 0 da experimentação. Nesses casos de doença hepática crônica é comum que animais, apesar de apresentarem graves lesões hepáticas, os apresentam sinais clínicos muito tempo após a ingestão da planta (Barri & Adam 1981; Tokarnia e Döbereiner 1984).

Neste estudo, tanto na intoxicação espontânea como na experimental a principal lesão foi observada no fígado e se caracterizou por fibrose hepática com megalocitose, desorganização acentuada dos cordões hepatocelulares e proliferação de canálculos biliares. As alterações pulmonares descritas neste caso são frequentemente descritas na intoxicação crônica por plantas do gênero *Crotalaria*, acompanhadas ou não de lesão hepática (Nobre et al. 1994; Boghossian et al. 2007; Botha et al. 2012; Pessoa et al. 2013; Pires et al. 2015). Por outro lado, são descritos casos de intoxicação por *C. mucronata* em que a evolução clínica da doença é aguda e as lesões são exclusivamente pulmonares e caracterizadas por edema acentuado e difuso (Laws 1968; Tokarnia & Döbereiner 1982; Borelli et al. 2016).

Neste estudo, nos casos naturais ainda foi observado ainda lesões renais que, apesar de infrequentes, são descritas na intoxicação por *C. spectabilis* em bovinos (Sanders et al. 1936), *C. retusa* em suínos (Hooper 1977) e por *C. spectabilis* em suínos (McGrath e Duncan 1975; Torres et al. 1997) e caprinos (Pires et al. 2015) bem como em animais intoxicados por *Senecio* spp (Barros et al. 1987; Ilha et al. 2001). Na intoxicação experimental não havia alteração renal significativa.

Alguns autores pressupõem que as alterações morfológicas, no encéfalo, observadas na intoxicação por plantas do gênero *Crotalaria* se devem à neurotoxicidade direta de seu princípio ativo (Pitanga et al. 2011; Pitanga et al. 2012). No entanto, as vacuolizações do encéfalo observadas nesse caso são frequentemente descritas em doenças hepáticas crônicas associadas à encefalopatia hepática. *Status spongiosus* ocorre secundariamente à hiperamonemia decorrente do dano hepático. A amônia provoca edema intramielínico formando vacúolos na substância branca do encéfalo (Kelly 2007; Elco & Wijdicks, 2016).

A principal substância tóxica presente em *C. spectabilis* é um alcaloide pirroolidínico (AP) denominada monocrotalina (MNC) (Neal et al. 1935). APs são um grupo de alcaloides derivados da ornitina. Eles raramente ocorrem na forma livre como uma base pirroolidina, são mais frequentemente encontrados como ésteres (monoésteres, diésteres ou ésteres macrocíclicos) formados por uma base necina (amino álcoois) e um ou mais ácidos nélicos (ácidos alifáticos mono ou dicarboxílicos), os quais são responsáveis por sua diversidade estrutural. Eles normalmente são encontrados na forma de bases terciárias de alcaloides pirroolidínicos N-óxidos. De acordo com a estrutura da base necina, os APs podem ser classificados em quatro grupos: Retronecina, Heliotridina, Otonecina e Platinecina (Mattocks 1986; Cheeke 1988; Moreira et al. 2018). MNC é um AP do tipo retroncina e, como muitos APs, não é quimicamente reativo, sendo, após a ingestão, absorvida no trato gastrointestinal, chega à corrente sanguínea e aproximadamente 80%, dela é excretada pela urina, fezes ou leite sem ser metabolizada (Moreira et al. 2018). A maior parte da bioativação ocorre no fígado e, desse modo, como vimos neste estudo, este órgão é o mais frequentemente afetado nos casos de intoxicação (Mattocks 1986; Cheeke 1988; Huxtable 1990; Fu et al. 2004). Existem três vias principais para o metabolismo de MNC: Hidrólise, N-oxidação e Dehidrogenação. As duas primeiras levam a formação de substâncias inócuas e são consideradas mecanismos de detoxificação, por outro lado, a dehidrogenação, modulada pelo complexo enzimático citocromo P-450, leva à formação de 1,2 dehidromonocrotalina, um diéster pirrólico altamente ativo (Mattocks 1986; Cheeke 1988; Huxtable 1990; Fu et al. 2004; Burrows & Tyrl 2013; Moreira et al. 2018). Os pirróis formados lesionam os hepatócitos se ligando irreversivelmente ao DNA (efeito alquilante) e impedem que ocorra mitose nos hepatócitos, embora a síntese de DNA e citoplasma permaneça. Isso causa um aumento no volume nuclear e citoplasmático dos hepatócitos chamado hepatomegalocitose (Bull 1955; Cheeke 1988). Apesar de seu volume, o metabolismo dos megalócitos diminui consideravelmente (Seawright et al. 1991), e se ocorre mitose os hepatócitos morrem e são substituídos por tecido fibroso (Cheeke 1988; Burrows & Tyrl 2013). Parte dos pirróis formados no fígado podem, através da circulação, e como observado nesse caso, causar lesões em outros órgão

como pulmão ou rins (Mattocks 1986; Cheeke 1988; Huxtable 1990; Fu et al. 2004; Burrows & Tyrl 2013; Yao 2014; Moreira et al. 2018).

Conclusão: *Crotalaria spectabilis* é tóxica para bovinos, causando principalmente fibrose hepática. A doença natural pode ocorrer decorrente de problemas de manejo na colheita de sementes ou incorporação ao solo, contaminando as pastagens e se tornando uma forma em potencial de intoxicação de bovinos no sistema de integração lavoura-pecuária. Essa doença pôde ser reproduzida experimentalmente, nesta espécie, através da administração de sementes na dose de 1g/kg por 30 dias.

Referências:

- Barri MES & Adam SEI 1981. The toxicity of *Crotalaria saltiana* to calves. *J. Comp. Path.* 91: 621-627.
- Barros CSL. 2016. Fígado, vias biliares e pâncreas exócrino, p181-265. In: Santos R.L. & Alessi A.C. (Eds), *Patologia Veterinária*. 2ª ed. Roca, Rio de Janeiro.
- Barros CSL, Metzendorf LL, Peixoto PV 1987. Ocorrência de surtos de intoxicação por *Senecio* spp. (Compositae) em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 7(4):101-107.
- Becker RB, Neal WM, Arnold PTD, Shealy AL 1935. A study of the payability and possible toxicity of 11 species of *Crotalaria* especially of *C. spectabilis*. *J. Agric. Res.* 50: 911-922.
- Boghossian MR, Peixoto PV, Brito MF & Tokarnia CH 2007. Aspectos clínico-patológicos da intoxicação experimental pelas sementes de *Crotalaria mucronata* (Fabaceae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 27(4):149-156.
- Borelli V 2015. Intoxicação espontânea e experimental por folhas verdes de *Crotalaria* (*mucronata*) *pallida* em ovinos. Tese de Doutorado. *Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal*, Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages, SC. 53p.
- Borelli V, Cardoso TC, Biffi CP, Wicpolt N, Ogliari D, Savari T, Traverso SD & Gava A 2016. Intoxicação experimental por folhas de *Crotalaria pallida* (*mucronata*) em ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 36(10), 935-938. <https://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x2016001000003>
- Botha CJ, Lewis A, du Plessis EC, Clift SJ, Williams MC 2012. *Crotalaria* *equorum* ("jaagsiekte") in horses in southern Mozambique, a rare form of pyrrolizidine alkaloid poisoning. *J Vet Diagn Invest.* Nov;24(6):1099-104. doi: 10.1177/1040638712460673.
- Bull LB 1955. The histological evidence of liver damage from pyrrolizidine alkaloids. *Australian Vet. J.* 31: 33-40.
- Burrows GE, Tyrl RJ 2013. *Toxic Plants of North América*, 2ª ed. Wiley-Blackwell, Ames, IA, United States. p.491-674.
- Cheeke PR. 1988. Toxicity and metabolism of pyrrolizidine alkaloids, *J. Anim. Sci.* 66, 2343p.
- Cullen JM. 2007. Liver, Biliary System, and Exocrine Pancreas, p.393-461. In: McGavin M.D. & Zachary J.F. (ed.), *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 4ª ed. Mosby Elsevier, St Louis, 1476p.
- Debiasi H, Franchini JC, Dias WP, Ramos Junior EU, Balbinot Junior AA 2016. Práticas culturais na entressafra da soja para o controle de *Pratylenchus brachyurus*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 51(10):1720-1728. <https://dx.doi.org/10.1590/s0100-204x2016001000003>.
- Eelco FM, Wijdicks EF. (2016). Hepatic encephalopathy. *N Engl J Med.* 375:1660-70.
- Emmel MW, Sanders D A, Henley WW 1935. *Crotalaria spectabilis* Roth. Seed Poisoning in Swine. *J. Am. vet. med. Ass.*, (86), 43.
- Fletcher MT, Hayes PY, Somerville MJ, De Voss JJ 2011. *Crotalaria medicaginea* associated with horse deaths in northern Australia: new pyrrolizidine alkaloids. *J Agric Food Chem.* Nov. 9;59(21):11888-92. doi: 10.1021/jf203147x.
- Fu PP, Xia Q, Lin G e Chou MW 2004. Pyrrolizidine alkaloids — genotoxicity, metabolism enzymes, metabolic activation, and mechanisms. *Drug Metab Ver.* 36:1-55.
- Huxtable RJ 1990. Activation and pulmonary toxicity of pyrrolizidine alkaloids. T. E. Gram, special ed. *Pharmacol. Ther.* 47: 371-389.
- Hooper PT & Scanlan WA 1977. *Crotalaria retusa* poisoning of pigs and poultry, *Aust. Vet. J.* p.53,109.
- Ilha MRS, Loretto AP, Barros SS & Barros CSL 2001. Intoxicação espontânea por *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) em ovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 21:123-138.

- Karam FC, Schild AL & Mello JRB 2011. Intoxicação por *Senecio spp.* em bovinos no Rio Grande do Sul: condições ambientais favoráveis e medidas de controle. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 31(7):603-609. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2011000700010>.
- Karam FSC, Soares MP, Haraguchi M, Riet-Correa F, Méndez MC & Jarenkow JA 2004. Aspectos epidemiológicos da seneciose na região sul do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 24(4):191-198.
- Kelly WR 2007. Liver and biliary system, p.319-406. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (ed.), *Pathology of Domestic Animals*. Vol.2. 4th ed. Academic Press, San Diego. 747p.
- Laws L 1968. Toxicity of *Crotalaria mucronata* to sheep. *Aust. Vet. J.* 44(10):453-455.
- Lemos RAA, Dutra IS, Souza GF, Nakazato L & Barros CSL 1997. Intoxicação espontânea por *Crotalaria mucronata* em bovinos em Minas Gerais. *Arqs Inst. Biológico*, São Paulo, 64:46.
- Luna IG, 1968. AFIP (ed). *Manual of Histologic Staining Techniques*. 3rd ed. McGraw-Hill Publications; New York: 1968. p.160.
- Maia LA 2013. Intoxicação por *Crotalaria retusa* em pequenos ruminantes. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB. 56p.
- Mattocks AR. 1986. *Chemistry and toxicology of pyrrolizidine alkaloids*. London, Orlando Fla: Academic Press.
- McGrath JP, Duncan JR, Munnell JF 1975. *Crotalaria spectabilis* toxicity in swine: characterization of the renal glomerular lesion. *J Comp Pathol. Apr*; 85(2):185-94.
- Méndez MC, Riet-Correa F, Schild AL & Garcia JTC 1985. Intoxicação por *Echium plantagineum* (Boraginaceae) em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 5:57-64.
- Moreira R, Pereira DM, Valentão P, & Andrade PB 2018. Pyrrolizidine Alkaloids: Chemistry, Pharmacology, Toxicology and Food Safety. *International journal of molecular sciences*, 19(6),1668. doi:10.3390/ijms19061668.
- Nealw M, Rusoff LL & Ahmann CF 1935. The isolation and some properties of an alkaloid from *Crotalaria spectabilis* (Roth). *J. Am. Chem. SOC.* 57: 25-61.
- Nobre D, Dagli MLZ, Haraguchi M 1994. *Crotalaria juncea* intoxication in horses. *Vet. Hum. Toxicol.* 36:445-448.
- Nobre VMT, Dantas AFM, Riet-Correa F, Barbosa Filho JM, Tabosa IM & Vasconcelos JS 2005. Acute intoxication by *Crotalaria retusa* in sheep. *Toxicon* 45(3):347-352.
- Nobre VMT, Riet-Correa F, Dantas AFM, Tabosa IM, Medeiros RMT, Barbosa Filho JM, 2004a. Intoxication by *Crotalaria retusa* in ruminants and Equidae in the state of Paraíba, northeastern Brazil. In: Acamovich T., Stewart C.S., Pennycott T.W. (Eds.), *Plant Poisoning and Related Toxins*. CAB International, Glasgow, pp. 275-279.
- Nobre VMT, Riet-Correa F, Barbosa Filho JM, Tabosa IM, Vasconcelos JS, 2004b. Intoxicação por *Crotalaria retusa* (Fabaceae) em eqüídeos no semi-árido da Paraíba. *Pesq. Vet. Bras.* 24, 132-143.
- Pessoa CRM, Pessoa AFA, Maia L, Medeiros RMT, Colegate SM, Barros S, Pereira Soares M. Borges A, Correa Peñuela J 2013. Pulmonary and hepatic lesions caused by the dehydropyrrolizidine alkaloid-producing plants *Crotalaria juncea* and *Crotalaria retusa* in donkeys. *Toxicon*:71. 10.1016/j.toxicon.2013.05.007.
- Piercy PL, Rusoff LL 1946. *Crotalaria spectabilis* poisoning in Louisiana livestock. *J Am Vet Med Assoc.* Feb;108:69-73.
- Pierezan F, Oliveira Filho JC, Carmo PM, Lucena RB, Rissi DR, Togni M & Barros CSL (2010). Surto de alatoxicose em bezerros no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 30(5):418-422.
- Pires APC, Oliveira MC, Braga KM, Malafaia PB, Janne PN, Tokarnia CH, Brito MF 2015. Estudo sobre a sensibilidade dos caprinos à toxidez de crotalárias tóxicas para bovinos visando a sua utilização na profilaxia. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 35(6):501-512. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2015000600003>.
- Pitanga BP, Silva VD, Souza CS, Junqueira HA, Fragomeni BO, Nascimento RP, Silva AR, Costa MF, El-Bachá RS, Costa SL 2011. Assessment of neurotoxicity of monocrotaline, an alkaloid extracted from *Crotalaria retusa* in astrocyte/neuronco-culture system. *Neurotoxicology*. 32:776-784.
- Pitanga BP, Nascimento RP, Silva VD, Costa SL 2012. The Role of Astrocytes in Metabolism and Neurotoxicity of the Pyrrolizidine Alkaloid Monocrotaline, the Main Toxin of *Crotalaria retusa*. *Frontiers in pharmacology*, 3, 144p. doi:10.3389/fphar.2012.00144.

- Prophet EB, Mills B, Arrington JB, Sobin LH 1992. Laboratory Methods in Histotechnology. *American Registry of Pathology, Armed Forces Institute of Pathology*, Washington, DC. 279p.
- Resolução CFMV N°1000/2012. Disponível em: <http://portal.cfmv.gov.br/lei/index/id/326>.
- Riet-Correa F, Carvalho KS, Dantas AFM, Medeiros RMT 2011. Spontaneous acute poisoning by *Crotalaria retusa* in sheep and biological control of this plant with sheep. *Toxicon* (Oxford), v. 58:606-609.
- Sanderds A, Sheale AL, Emmel YMW 1936. Pathology of *Crotalaria spectabilis* (Roth) poisoning in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 89: 150-156.
- Seawright AA, Hrdlicka J, Wright JD, Kerr DR, Mattocks AR, Jukes R 1991. The identification of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloid exposure in horses by the demonstration of sulphur-bound pyrrolic metabolites on their hemoglobin. *Vet Hum Toxicol.* Jun;33(3):286-7.
- Stegelmeier BL 2011. Pyrrolizidine alkaloid-containing toxic plants (Senecio, Crotalaria, Cynoglossum, Amsinckia, Heliotropium, and Echium spp.). *Vet. Clin. North Am., Food Anim.* 27(2):419-428.
- Steyn DG 1934. The toxicology of plants of South Africa. Centrei News Agency, South Africa. Onderstepoort Journal of Veterinary Science and Animal Industry. Oct. V. 3: N. 2.
- Thomas EW, Neal WM, Ahmann CF 1935. The toxicity of *Crotalaria spectabilis* (Roth) to livestock and poultry. *J. Amer. Soc. Agron.* 27:499-500.
- Tokarnia CH, Barbosa JD, Peixoto PV & Döbereiner J 2012. Plantas Tóxicas do Brasil. 2ª (ed.) Rio de Janeiro: Helianthus. (1):586p.
- Tokarnia CH & Döbereiner J 1982. Intoxicação experimental por *Crotalaria mucronata* (Leg. Papilionoideae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 2(2):77-85.
- Tokarnia CH & Döbereiner J 1983. Intoxicação experimental por *Crotalaria anagyroides* (Leg. Papilionoideae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 3(4):115-123.
- Tokarnia CH & Döbereiner J 1984. Intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* (Compositae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* v.4:36-65.
- Torres MBAM, Salles MWS, Headley AS & Barros CSL 1997. Intoxicação experimental por sementes de *Crotalaria spectabilis* (Leguminosae) em Suínos. *Ciência Rural* 27(2):307-312.
- Ubiali DG, Boabaid FM, Borges NA, Caldeira FHB, Lodi LR, Pescador CA, Souza MA & Colodel EM 2011. Intoxicação aguda com sementes de *Crotalaria spectabilis* (Leg. Papilionoideae) em suínos. *Pesq. Vet. Bras.* 31(4):313-318. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2011000400007>.
- Yao J, Li CG, Gong LK, Feng CC, Li CZ, Gao M, Luan Y, Qi XM, Ren J 2014. Hepatic cytochrome P450s play a major role in monocrotaline-induced renal toxicity in mice. *Acta Pharmacol. Sin.* 35: 292-300.

APENDICE B ã COMPROVANTE DE SUBMISSÃO

Submission Confirmation

[Print](#)

Thank you for your submission

Submitted to

Pesquisa Veterinária Brasileira

Manuscript ID

PVB-6616

Title

Intoxicação Espontânea e Experimental por *Crotalaria spectabilis* (Fabaceae) em Bovinos

Authors

Ribeiro, Marlon
Bianchi, Isadora
Pavelegini, Lucas Avelino
da Silva, João Gabriel
dos santos, Quêlvia
Zorzo, Carolina
Colodel, Edson
Furlan, Fernando

Date Submitted

27-Feb-2020

APENDICE C ã WEBQUALIS

Não seguro | sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/veiculoPublicacaoQualis/listaConsultaGeralPeriodicos.jsf

Título:

Classificação:

Periódicos

ISSN	Título	Área de Avaliação	Classificação
1678-5150	PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA (ONLINE)	MEDICINA VETERINÁRIA	A2

1

1 a 1 de 1 registro(s)

Sucupira **CAPES** **UFPA** **RNP** **REDE NACIONAL DE ENSINO E PESQUISA** **MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO** **PÁTRIA AMADA BRASIL**

Compatibilidade: Versão do sistema: 3.30.1 Copyright 2010 Capes. Todos os direitos reservados.