

Avaliações clínico-patológicas e laboratoriais da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos¹

Tiago C. Peixoto^{2*}, Vivian A. Nogueira³, Cleide D. Coelho⁴, Cristiano C.P. Veiga², Paulo V. Peixoto⁵ e Marilene F. Brito³

ABSTRACT.- Peixoto T.C., Nogueira V.A., Coelho C.D., Veiga C.C.P., Peixoto P.V. & Brito M.F. 2010. [**Clinic-pathological and laboratory aspects of experimental poisoning by sodium monofluoroacetate in sheep.**] Avaliações clínico-patológicas e laboratoriais da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 30(12):1021-1030. Projeto Sanidade Animal Embrapa/UFRRJ, Seropédica, RJ 23890-000, Brazil. E-mail: tiagocpeixoto@yahoo.com.br

The objective of this study was to verify if the ingestion of single doses of sodium monofluoroacetate (MF) and daily fractions of 1/2.5 and 1/5 of the lethal dose causes the same lesion as the one observed in the kidney of cattle poisoned by Brazilian sudden death causing plants (BSDCP). MF was administered orally in single doses of 0.5 and 1.0mg/kg to four sheep, and repeated daily doses of 0.1 and 0.2mg/kg to two others. Death occurred in five of six animals. The course of poisoning lasted from 3min to 33h5min. Clinically the animals presented palpitation, abdominal breathing, slight balance loss with sometimes swaying gait, they laid down and placed the head on their flank. In the "dramatic phase", all the sheep fell into lateral decubitus, stretched out the legs, made peddling movements, presented opisthotonus, and died. The electrocardiographical examination showed heart dilatation and reduction of the systolic shortening fraction. Laboratory hematological exams revealed increased urea and creatinine. MF caused the clinical and pathological symptoms of "sudden death". At postmortem examination, heart auricles and jugular, cava, azygos and pulmonary veins of all animals were moderately engorged, and in some sheep, pulmonary edema was observed. Histopathology revealed hydropic-vacuolar degeneration (HVD) of the epithelial cells of the distal convoluted kidney tubules associated with nuclear picnosis in all the sheep. Vacuolation and less often necrosis of liver cells was seen in some cases. No references to that peculiar type of lesion could be found in the literature, except the description of kidney lesions in animals associated with the ingestion of BSDCP, and recent studies of MF poisoning in cattle. The present study demonstrated in sheep that single lethal doses or repeated doses of fractions of the lethal dose of MF causes HVD of the distal convoluted kidney tubules, associated with nuclear picnosis.

INDEX TERMS: Sodium monofluoroacetate, hydropic-vacuolar degeneration, sheep, pathology, plant poisoning.

¹ Recebido em 21 de maio de 2010.

Aceito para publicação em 3 de agosto de 2010.

Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor, defendida na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ 23890-000, Brasil.

² Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Instituto de Veterinária, UFRRJ, Seropédica, RJ. *Autor para correspondência: tiagocpeixoto@yahoo.com.br

³ Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, Instituto de Veterinária, UFRRJ, Seropédica, RJ.

⁴ Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRRJ, Seropédica, RJ.

⁵ Departamento de Nutrição Animal e Pastagem, Instituto de Zootecnia, UFRRJ, Seropédica, RJ.

RESUMO.- O objetivo deste trabalho foi verificar se a administração de doses únicas e de frações diárias da dose letal de monofluoroacetato de sódio (MF) a ovinos induzem a clássica degeneração hidrópico-vacuolar (DHV) dos túbulos uriníferos contornados distais observada no rim de bovinos intoxicados por plantas brasileiras que causam "morte súbita" (PBCMS). MF foi administrado, por via oral, em doses únicas de 0,5 e 1,0mg/kg, cada dose para dois ovinos, e em doses subletais repetidas diariamente de 0,1mg/kg/dia, por quatro dias, e 0,2mg/kg/dia por seis dias, cada dose para um ovino. Todos os ovinos que receberam MF morreram, exceto um que recebeu 0,5mg/kg e não mostrou sintomas. A evolução da

intoxicação variou de 3min a 33h5min. Clinicamente os animais apresentaram taquicardia, respiração abdominal, tremores musculares, ligeira perda de equilíbrio, por vezes cambaleavam, deitavam e apoiavam a cabeça no flanco. Na fase final, os ovinos caíam em decúbito lateral, esticavam os membros, faziam movimentos de pedalagem, apresentavam opistótono e morriam. O exame ecocardiográfico evidenciou dilatação cardíaca e redução da fração de encurtamento sistólico. A análise dos níveis séricos de uréia e creatinina revelou moderada a acentuada azotemia. MF provocou “morte súbita” em todos os ovinos que mostraram sintomas. À necropsia verificaram-se aurículas e veias jugulares, cavas, ázigos e pulmonares moderadamente ingurgitadas e, em alguns animais, edema pulmonar. O exame histopatológico revelou, em todos os ovinos, leve a acentuada DHV das células epiteliais dos túbulos contornados distais, associada à picnose nuclear. Adicionalmente, verificaram-se discreta vacuolização e, por vezes, necrose de coagulação de hepatócitos. Não encontramos referências a esse tipo peculiar de lesão, exceto das descrições sobre lesões renais associadas à ingestão de PBCMS e de recentes estudos em bovinos intoxicados com MF. Este trabalho demonstra, em ovinos, que tanto doses letais únicas quanto subdoses diárias de MF induzem a DHV dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Monofluoroacetato de sódio, degeneração hidrópico-vacuolar, ovinos, patologia, intoxicação por planta.

INTRODUÇÃO

O monofluoroacetato de sódio (MF), conhecido também como ácido monofluoroacético, 1080 e “mão branca” (Ballani et al. 2008), é uma das substâncias mais tóxicas já descobertas (Zurita et al. 2007). A toxicidade do MF ocorre, exclusivamente, pela ação do fluorocitrato, seu metabólito tóxico, formado no organismo por meio da denominada “síntese letal”. O fluoroacetato se liga à acetil coenzima A (CoA) para formar fluoroacetil CoA, que substitui o acetil CoA no ciclo de Krebs, conjuga-se com o oxaloacetato e reage com a enzima citrato sintase para produzir fluorocitrato (Peters 1952). Este composto bloqueia competitivamente a aconitase (Krebs et al. 1994) e impede a conversão do citrato em isocitrato, o que resulta no acúmulo de grandes quantidades de citrato nos tecidos. Há diminuição da produção de ATP em até 50% e processos metabólicos dependentes de energia são bloqueados (Peters 1952). De acordo com a literatura, a morte sobrevieria pelo efeito mais intenso sobre o coração em bovinos (Jubb et al. 2007), ovinos (Schultz et al. 1982), equinos, caprinos, coelhos e macacos (Chenoweth & Gilman 1946), ou sobre o SNC em humanos (Gajdusek & Luther 1950), cães, cobaias, ratos e hamsters. Em algumas espécies como gato e porco doméstico, o efeito se faz sobre ambos os tecidos (Chenoweth & Gilman 1946).

No Brasil, as numerosas plantas que causam *morte súbita* em bovinos, isto é, uma intoxicação cuja morte ocorre de forma repentina, em geral sem manifestação de sinais clínicos prévios e com ausência de achados macroscópicos significativos, são responsáveis, por cerca de 600.000 mortes de bovinos, todos os anos. Dentre essas plantas, destaca-se *Palicourea marcgravii*, por sua elevada toxidez, ampla distribuição, boa palatabilidade e efeito acumulativo (Tokarnia et al. 2000). Desde a década de 1930, *P. marcgravii* tem sido objeto de diversos estudos, sobretudo no que se refere à identificação e quantificação de possíveis substâncias tóxicas ou com ação farmacológica, contudo, ainda hoje há dúvidas sobre qual substância dentre as diversas já isoladas, seria, de fato, o princípio tóxico da planta capaz de determinar o quadro clínico-patológico e a morte dos animais intoxicados.

MF tem sido isolado de algumas plantas tóxicas, cuja ingestão determina “morte súbita”. Na África do Sul, esse composto foi isolado e identificado por Marais (1944) em *Dichapetalum cymosum* e na Austrália, em *Acacia georginae* (Oelrichs & McEwan 1962), *Gastrolobium* spp. (McEwan 1964) e *Oxylobium* spp. (Baron et al. 1987). No Brasil, demonstrou-se, pelo menos cromatograficamente, a presença dessa substância em *Palicourea marcgravii* (Oliveira 1963) e *Arrabidaea bilabiata* (Krebs et al. 1994). Contudo, Cunha (2008) tentou identificar o MF em *Mascagnia rigida* e detectou a presença de pico cromatográfico com tempo similar ao observado para MF, entretanto, ressalta que “paira a dúvida se realmente o pico observado confirma, de forma definitiva, a presença de MF no extrato da planta”, uma vez que a autora não descarta a presença de interferentes com tempo de retenção similar.

Embora o quadro clínico-patológico verificado em animais que ingerem essas plantas corresponda, em grande parte, ao observado nos casos de intoxicação por MF, alguns autores acreditam que esse composto não seria o princípio tóxico determinante das mortes dos animais que ingerem essas plantas (Habermehl 1986, Gonzáles et al. 2000) ou que haveria outras substâncias que poderiam causar a morte dos animais (Peckolt 1868, Guimarães 1934, Hoehne 1939, Mello & Fernandes 1940, Górnjak et al. 1986), ter efeito sinérgico com o MF (Kemmerling 1996) ou contribuir para a toxicidade dessas plantas (Górnjak 1988, Coelho et al. 2007).

Em 1959, Döbereiner & Tokarnia detectaram no rim de bovinos intoxicados por *P. marcgravii*, uma lesão por eles designada degeneração hidrópico-vacuolar (DHV) dos túbulos uriníferos contornados distais, que consideram típica para essa intoxicação e de grande valor diagnóstico, em função de sua distribuição seletiva, quase exclusiva a esses túbulos e pela marcada picnose nuclear. Recentemente, Nogueira (2009) demonstrou que bovinos intoxicados experimentalmente com doses únicas de MF desenvolvem essa típica DHV, entretanto, ainda não foi demonstrado se a administração diária de frações da dose letal de MF a animais, bem como se a intoxicação aguda por MF

em ovinos são capazes de determinar essa lesão renal, uma vez que Schultz et al. (1982) não a menciona em seus estudos.

O presente trabalho teve como objetivo caracterizar o quadro clínico-patológico e laboratorial da intoxicação experimental por MF em ovinos, com a finalidade de verificar se a ingestão de doses únicas e de frações diárias da dose letal desse composto induzem lesões histológicas semelhantes às observadas nos bovinos e ovinos intoxicados por PBCMS. A comprovação de que MF é a substância responsável, ou pelo menos o principal fator determinante da morte dos animais que ingeriram essas plantas, abriria boas possibilidades de implantarem-se medidas profiláticas efetivas, uma vez que na Austrália verificou-se que bactérias ruminais podem ser modificadas geneticamente para desdobrar MF e torná-lo inócuo (Gregg et al. 1998). No Brasil, esses estudos encontram-se em fase inicial de desenvolvimento pelo intitulado Projeto Milênio coordenado pelo Dr. Franklin Riet-Correa⁶. Tal condição tornaria possível a profilaxia da intoxicação natural por PBCMS que é inviável, em termos práticos, através da utilização de antídotos.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados de abril a maio de 2008 no Setor de Anatomia Patológica do Projeto Sanidade Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro. Foram utilizados sete ovinos clinicamente sadios, sem raça definida, machos e fêmeas, com idades de 6 meses a 3 anos e pesos de 19 a 53 kg. Os animais foram previamente vermifugados e adaptados ao local. A dieta era constituída de capim picado (*Panicum maximum*) e água à vontade. Os ovinos foram mantidos em baias individuais de alvenaria com área de 4,0m² e piso de cimento.

O experimento piloto, denominado de auto-direcional, foi realizado em dois animais, com o objetivo de utilizar o menor número possível destes. Os experimentos subsequentes fo-

ram realizados na dependência dos primeiros resultados obtidos.

MF (Sigma Aldrich Co⁷) foi administrado, por via oral, em doses únicas (0,5 e 1,0mg/kg) e em doses subletais repetidas diariamente (0,1 e 0,2mg/kg/dia), conforme descrito no Quadro 1. Um ovino, mantido nas mesmas condições que os demais, recebeu 10mL de água destilada, por via oral, e serviu como controle. As doses administradas aos ovinos foram estabelecidas com base naquelas descritas por Humphreys (1988), previamente pesadas em balança eletrônica de precisão e diluídas, no momento de sua administração, em 10mL de água destilada.

Os animais foram observados continuamente e examinados clinicamente, no mínimo, a cada duas horas, desde o momento da administração de MF até a morte, exceto os dois animais que receberam frações diárias da dose letal, os quais foram inicialmente examinados, pelo menos, oito vezes ao dia, até que o somatório das subdoses administradas atingisse a dose letal descrita na literatura. A partir desse momento, esses animais foram acompanhados com a mesma metodologia inicialmente descrita.

Foram feitas coletas de sangue de todos os ovinos, e urina de três destes. As amostras de sangue destinadas à bioquímica sérica (uréia e creatinina) foram obtidas da veia jugular e acondicionadas em tubos secos, a fim de permitir a formação e retração do coágulo. Foram coletadas amostras no tempo zero (imediatamente antes da administração de MF) de quatro animais, porém após a administração de MF o intervalo de tempo entre as coletas variou de acordo com a dose de MF administrada, conforme descrito no Quadro 2. As amostras de urina foram coletadas por micção espontânea durante o exame clínico e/ou por punção vesical, durante a necropsia, quando esta estava repleta e acondicionadas em

⁶ Franklin Riet-Correa, Laboratório de Anatomia Patológica, Hospital Veterinário, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Santa Cecília, Patos, PB 58700-000, Brasil.

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

Quadro 1. Principais dados sobre o delineamento experimental e desfecho da intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio em ovinos

Identificação do ovino (Reg. SAP)	Sexo	Idade	Peso (kg)	Dose de MF	Nº de administrações	Dose total (mg)	Data e hora da administração	Início dos sinais clínicos após o começo da administração de MF	Evolução da intoxicação	Desfecho
5761 (31260)	Fêmea	3 anos	31	0,5mg/kg	1	15,5	04.04.2008 21:16	14h e 6min	7h e 55min	Morreu
5763	Fêmea	2 anos	37	0,5mg/kg	1	18,5	17.04.2008 17:37	-	-	Sem sintomas
5762 (31261)	Fêmea	6 meses	19	1,0mg/kg	1	19,0	05.04.2008 03:15	13h e 20min	10min	Morreu
5765 (31265)	Macho	3 anos	53	1,0mg/kg	1	53,0	22.04.2008 17:08	9h e 44min	3min	Morreu
5764 (31263)	Fêmea	2 anos	36	0,1 mg/kg/dia	4	14,4 (3,6mg/dia)	17.04.2008* 17:42	-	-	Encontrado morto**
5766 (31266)	Macho	3 anos	44	0,2 mg/kg/dia	6	52,8 (8,8mg/dia)	19.04.2008* 17:00	88h e 31min	33h e 5min	Morreu
Controle	Macho	3 anos	43	-	-	10ml de água destilada	04.04.2008 21:20	-	-	-

*Data e hora da 1ª administração.

**Encontrado morto 86h18min após a 1ª administração.

Quadro 2. Análises bioquímicas dos ovinos intoxicados experimentalmente com monofluoroacetato de sódio

Identificação do ovino	Dose	Uréia (mg/dL)* (mg/kg)8-10				Creatinina (mg/dL)* 1,2-1,9			
		0h		17h		0h		17h	
5761	0,5	-	-	17,7	-	-	-	1,98	-
5763	0,5	10,0	-	23,3	1,81	-	-	1,96	-
		0h	-	10h	0h	-	-	10h	-
5762	1,0	-	-	19,7	-	-	-	1,33	-
5765	1,0	11,8	-	17,1	1,10	-	-	1,46	-
		0h	-	86h	0h	-	-	86h	-
5764	0,1 mg/kg/4dias	9,6	-	24,5	1,57	-	-	1,97	-
		0h	51h	86h	118h	122h	0h	51h	86h
5766	0,2 mg/kg/6dias	10,0	15,1	20,7	21,8	23,0	0,89	1,45	1,49
		118h	122h	0h	51h	86h	118h	122h	

* Valores de referência.

frascos coletores estéreis. Imediatamente após esse procedimento, as amostras foram refrigeradas e encaminhadas para o Laboratório de Patologia Clínica (Lacani) no Rio de Janeiro, onde foram processadas, em média, até 6 horas após a sua obtenção.

Ovino 5766 (0,2mg/kg/dia) foi submetido a exame ecocardiográfico no terceiro e no quarto dia (87h40min e 119h25min, respectivamente) após a administração da primeira subdose, com o intuito de se observar os efeitos de MF sobre o funcionamento do coração.

Todos os ovinos foram necropsiados imediatamente após a morte, exceto o Ovino 5764 que encontrado morto e necropsiado dentro de poucos minutos. Fragmentos de diversos órgãos foram coletados, fixados em formol 10%, processados rotineiramente para histopatologia e corados pela Hematoxilina e Eosina (HE).

RESULTADOS

Os principais dados sobre o delineamento experimental e o desfecho encontram-se no Quadro 1. Dos seis ovinos que receberam MF, cinco morreram. O ovino controle não apresentou qualquer alteração clínica.

Dose administrada, início dos sinais clínicos e evolução da intoxicação

Observaram-se sinais clínicos em quatro dos seis animais experimentais. Ovino 5763 (0,5mg/kg) não manifestou sinais clínicos e Ovino 5764, que recebeu 0,1mg/kg/dia durante 4 dias, foi encontrado morto sem que tivesse sido observado qualquer sinal clínico. Convém ressaltar que esse animal ainda mantinha a temperatura corporal (38,1°C), não apresentava *rigor mortis*, exibia mucosas ainda úmidas e sangue não-coagulado, isto é, morreu minutos antes.

O tempo decorrido entre a administração de MF e a manifestação dos primeiros sinais clínicos variou de 9h44min a 88h31min. Com doses únicas de 1,0mg/kg, os sinais clínicos se iniciaram 9h44min (Ovino 5765) e 13h20min (Ovino 5762) após a administração de MF; já o Ovino 5761, que recebeu 0,5mg/kg e morreu, os sinais clínicos tiveram início 14h6min após a administração de

MF. Com subdoses repetidas diariamente de 0,2mg/kg/dia durante 6 dias, os sinais clínicos se iniciaram 88h31min (Ovino 5766) após a primeira administração.

A evolução da intoxicação variou de 3min a 33h5min. Nos experimentos com doses únicas, os Ovinos 5762 e 5765, que receberam doses de 1,0mg/kg apresentaram evolução clínica superaguda (10 e 3min, respectivamente); para o ovino que recebeu a dose de 0,5mg/kg, a evolução foi de 7h55min (Ovino 5761); o Ovino 5763 que recebeu essa mesma dose não manifestou sinais clínicos. Nos experimentos com subdoses repetidas diariamente, o Ovino 5766 que recebeu 0,2mg/kg/dia por 6 dias apresentou evolução de 33h5min e o Ovino 5764 que recebeu 0,1mg/kg/dia por 4 dias, foi encontrado morto 86h18min após o início da administração de MF.

Quadro clínico geral

Nos quatro ovinos em que foram observados sinais clínicos, verificaram-se taquicardia, taquipnéia, arritmia, respiração abdominal, ligeira perda de equilíbrio; por vezes os ovinos cambaleavam, apoiavam a cabeça no flanco (postura de auto-auscultação), levantavam e deitavam em decúbito externo-abdominal repetidamente. Adicionalmente, observaram-se tremores musculares e apatia (Ovinos 5761, 5762 e 5766), relutância em mover-se (5766), prostração (5761 e 5766), jugulares ingurgitadas (5765 e 5766) (Fig.1), pulso venoso positivo (5766), poliúria (5761 e 5766), estertores pulmonares (5761 e 5762), dispnéia (5761), pescoço estendido com apoio da cabeça no solo (5766) e presença de líquido espumoso saindo pelas narinas e boca (5761). Dois ovinos subitamente começaram a correr (5762 e 5765) e um colidiu contra a parede (5762). Na fase final, em geral, os animais caíam em decúbito lateral, esticavam os membros, faziam movimentos de pedalagem, apresentavam opistótono, nistagmo, respiração ofegante e morriam em poucos minutos.

Bioquímica sérica

Todos os ovinos apresentaram alteração em pelo menos um dos parâmetros bioquímicos avaliados, confor-



Fig.1. Ovino 5766 que recebeu doses repetidas de 0,2mg/kg/6dias, mostra-se apático e com jugular ingurgitada, na intoxicação experimental por monofluoroacetato de sódio.

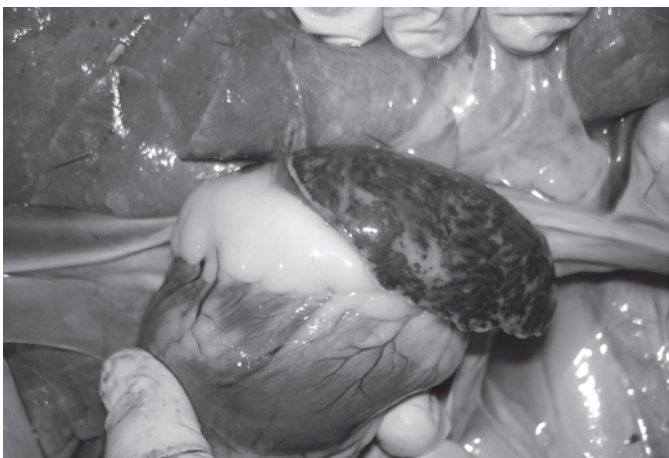


Fig.2. Ovino 5766 que recebeu doses repetidas de monofluoroacetato de sódio (0,2mg/kg/6dias), revela a aurícula esquerda e as veias cava caudal e cranial e as ázigos direita repletas.

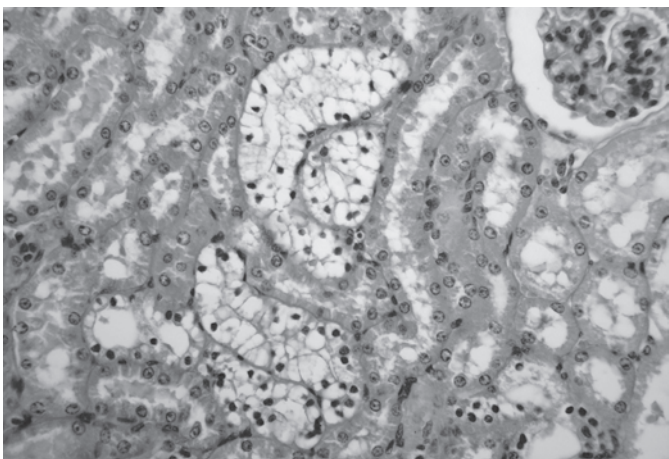


Fig.3. Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear, no Ovino 5761 que recebeu monofluoroacetato de sódio em dose única de 0,5mg/kg. HE, obj.25x.

me apresentado no Quadro 2. Verificou-se moderado a acentuado aumento nos níveis de uréia em todos os animais. Os níveis de creatinina nos Ovinos 5761, 5763 e 5764 revelaram-se discretamente aumentados, porém nos demais (5762, 5765 e 5766) apresentaram-se normais. No entanto, no Ovino 5766, observou-se, através de análises seriadas, um aumento gradual dos níveis de creatinina até atingir o valor de referência máximo (1,9mg/dL) no momento da última coleta de sangue realizada (122 horas após a administração da primeira subdose de 0,2mg/kg).

Urinálise

A análise das amostras de urina coletadas durante o experimento não revelou alterações.

Exames ecocardiográficos

A primeira avaliação ecocardiográfica realizada no Ovino 5766 (87h40min após a administração da primeira subdose) evidenciou moderada redução da fração de encurtamento (FE) sistólico do ventrículo esquerdo (30%), a qual se tornou acentuada (21%) após aproximadamente 32 horas. Observaram-se ainda, leve aumento de tamanho do átrio esquerdo e direito, bem como das dimensões do ventrículo direito.

Achados de necropsia

À necropsia, verificaram-se em todos os ovinos, aurículas, veias cava cranial e caudal (Fig.2), jugulares, ázigos, costo-cervicais, ilíacas e pulmonares leve a acentuadamente ingurgitadas. Havia moderada dilatação cardíaca direita e esquerda nos Ovinos 5761 e 5766 e leve dilatação do ventrículo esquerdo (5765), bem como raras petéquias no epicárdio do Ovino 5764 e leve (5766) a moderado (5762) hidropericárdio. Observaram-se ainda leve a moderada presença de líquido espumoso (5761 e 5766),

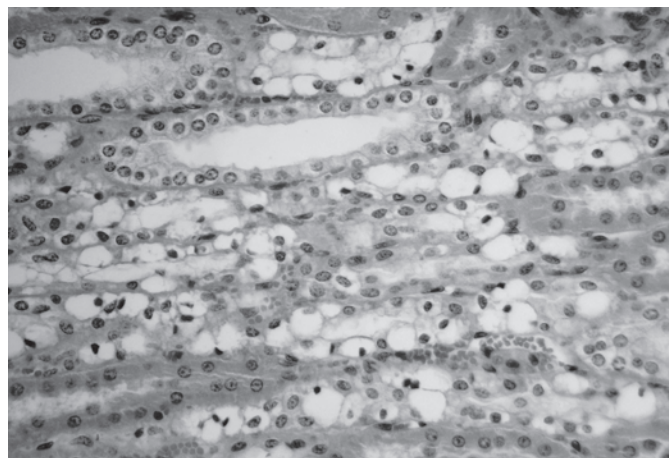


Fig.4. Degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais (lesão incipiente e lesão mais avançada, caracterizada por acentuada picnose nuclear), na intoxicação por monofluoroacetato de sódio, no Ovino 5764 que recebeu doses repetidas de 0,1mg/kg/4dias. HE, obj.25x.

por vezes, avermelhado (5762, 5764 e 5765) da traquéia aos brônquios. No Ovino 5762, verificou-se também, presença de líquido espumoso avermelhado do esôfago até a base da língua. Os pulmões apresentavam-se não colapsados (“armados”) (5762 e 5766), pesados (5761 e 5762), brilhantes (5761), irregularmente avermelhados (5761 e 5765), leve a moderadamente congestos (5761 e 5764) e com pequenas áreas de atelectasia (5761). Os demais achados constituíram-se de raras petéquias (5766) e equimoses no pulmão (5762, 5765 e 5766), leve edema subpleural (5761) e leve (5764) a moderado (5762 e 5766) edema pulmonar.

Achados histopatológicos

O exame histopatológico evidenciou, no rim de todos os ovinos, discreta (Ovinos 5765 e 5762) a acentuada (5761, 5764 e 5766) degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais (Fig.3-4) e, por vezes, dos túbulos retos (5764 e 5766), associada à picnose nuclear. Havia ainda, leve congestão (5761 e 5766) e discreto infiltrado linfoplasmocitário intersticial (5762 e 5765). No fígado, em geral, observaram-se leve a moderada congestão, tumefação e vacuolização de hepatócitos predominantemente periportais, necrose individual aleatória de hepatócitos e, em um animal havia leve leucocitoestase (5765). No pulmão havia leve (5762, 5765 e 5766) a moderado (5761) edema e leve (5761, 5762 e 5764) a moderada (5765 e 5766) congestão. Nos demais órgãos não foram encontradas alterações significativas.

DISCUSSÃO

Nos ovinos desse estudo, a administração de doses letais únicas de MF, assim como de frações da dose letal (1/2,5 e 1/5) repetidas diariamente, provocaram quadro clínico-patológico de “morte súbita” que correspondeu, em diversos aspectos, ao observado em ovinos experimentalmente intoxicados por *Palicourea marcgravii* (Tokarnia et al. 1986), *Pseudocalymma elegans* (Consorte et al. 1994) e *Mascagnia rigida* (Vasconcelos et al. 2008) e nos casos recentemente relatados de intoxicação natural por *M. exotropica* (Bandarra et al. 2007) e *M. rigida* (Vasconcelos et al. 2008).

Adicionalmente observaram-se jugulares ingurgitadas (2/5), pulso venoso positivo (1/5), dilatação cardíaca (3/5), além de aurículas e grandes vasos da base do coração ingurgitados (5/5), achados clínicos e patológicos que só foram recentemente relatados em bovinos intoxicados experimentalmente com MF (Nogueira 2009) e por *P. elegans* (Helayel 2008), à exceção do pulso venoso positivo e da jugular ingurgitada, já descritos em ruminantes intoxicados por PBCMS (Tokarnia et al. 2000). Acreditamos, contudo, que em uma avaliação clínico-patológica mais acurada, esses achados também podem ser observados nos casos de intoxicação pelas demais plantas desse grupo, sobretudo, quando a evolução for mais longa do que o comum, conforme o verificado por Helayel (2008); segundo Jones et al. (2000), tais achados podem ocorrer em animais que morrem de insuficiência cardíaca aguda.

Ovino 5762 intoxicado com 1,0mg/kg de MF, após exibir leves tremores musculares, repentinamente começou a “correr às cegas” dentro da baía até colidir contra a parede e morrer em poucos minutos. É interessante mencionar que esse achado já foi descrito em ovinos (Bell et al. 1955) e caprinos (Basson et al. 1982) intoxicados, respectivamente por plantas australianas (*Acacia georginae*) e africanas (*Dichapetalum cymosum*), que contêm MF como princípio ativo.

Tradicionalmente as diferentes espécies animais são classificadas em quatro categorias, propostas por Chenoweth & Gilman (1946), em função do efeito provocado por MF. Somos da opinião que essa classificação deve ser revista e complementada com os dados recentes. Por exemplo, Chenoweth & Gilman (1946) não realizaram experimentos com bovinos e ovinos, e portanto, não agruparam essas espécies em nenhuma categoria. A nosso ver, tais espécies devem ser incluídas na Categoria I, uma vez que o principal efeito de MF em bovinos (Nogueira 2009) e ovinos (Jensen et al. 1948, Annison et al. 1960, Schultz et al. 1982) se faz sobre o coração, o que pôde ser evidenciado em nossos experimentos. Convém dizer que bovinos (Nogueira 2009) e ovinos intoxicados por MF, em geral, apresentam na fase final nistagmo e opistótono; tais achados também são observados em animais intoxicados por PBCMS e podem ser relacionados à hipóxia cerebral e não a ação primária de MF sobre o SNC.

Em relação aos equinos, Chenoweth & Gilman (1946) incluíram essa espécie na Categoria I, no entanto, afirmaram ser difícil determinar se havia, de fato, ausência de sintomas nervosos, uma vez que os animais foram anestesiados. Anos depois, outros autores descreveram sintomas referentes também ao SNC (Egekeze & Oehme 1979). Além disso, Tokarnia et al. (1993, 1995) verificaram que equinos intoxicados por *P. marcgravii* e *P. elegans* apresentam sinais clínicos referentes aos dois sistemas. Desta forma, acreditamos que essa espécie deva ser incluída na Categoria II.

Já os ratos e hamsters foram agrupados na Categoria IV, ou seja, animais que apresentam sintomatologia atípica, caracterizada por fraqueza e extrema bradicardia (Chenoweth & Gilman 1946). Esses sinais clínicos, entretanto, foram observados no dia seguinte à administração de MF, em animais que sobreviveram e, a nosso ver, não deveriam ter sido tão valorizados. Controversamente, esses autores também descreveram sintomas iniciais caracterizados por tremores, alteração postural, hiperexcitabilidade e convulsões tônicas provocadas por estímulos mecânicos. De fato, estudos posteriores demonstraram que ratos intoxicados por esse composto apresentam típica sintomatologia nervosa, caracterizada, em especial, por frequentes convulsões (Foss 1948, Egekeze & Oehme 1979, Cunha 2008). Além disso, Foss (1948) observou que ratos e camundongos intoxicados por MF apresentavam sinais clínicos nervosos idênticos aos manifestados por cobaias. Convém lembrar que Chenoweth & Gilman (1946) verificaram que cobaias apresentam alterações nervosas seme-

Quadro 3. Ação do monofluoroacetato de sódio sobre as diferentes espécies animais

Ação de MF	Espécie animal
O efeito se faz primariamente sobre o coração	Bovinos, ovinos, caprinos, coelhos
O efeito se faz tanto sobre o coração quanto sobre o SNC	Gatos, equinos
O efeito se faz primariamente sobre o SNC	Cães, cobaias, ratos, hamsters

lhantes àquelas descritas em cães e, desta forma, são incluídos na Categoria III. Somos da opinião, portanto, que ratos e hamsters pertencem à Categoria III. Desta forma, fica evidente que algumas complementações e modificações devem ser feitas nesse tradicional sistema de classificação. No Quadro 3 apresentamos a nova classificação por nós proposta.

Algumas considerações podem ser feitas a respeito do fato do Ovino 5761 (0,5mg/kg) ter apresentado evolução mais longa (7h55min) do que os outros animais desse estudo, que receberam doses únicas de MF e, por ter exibido acentuado sinais clínicos de edema pulmonar. Ao que tudo indica, essa divergência pode ser justificada, em parte, devido à dose administrada para esse animal ser limítrofe, ou seja, muito próxima da dose não-letal. Também corrobora com essa hipótese o fato do Ovino 5763, que recebeu a mesma dose (0,5mg/kg) não ter mostrado sintomas de intoxicação. Cabe ressaltar que experimentos realizados por Jensen et al. (1948), que visaram determinar a dose letal do MF para ovinos, doses de 0,25mg/kg não foram capazes de provocar sintomas, enquanto doses de 0,5mg/kg, apesar de terem causado sintomas e morte, cursaram com evolução mais longa (variou de 1h35min a 1h45min) do que a observada em outros experimentos realizados com doses maiores. Em relação ao acentuado edema pulmonar verificado no Ovino 5761 (0,5mg/kg), outros autores também descreveram esse achado em um ovino intoxicado com a mesma dose, cuja evolução da intoxicação foi longa (18h30min), além de outros sete ovinos intoxicados com doses únicas, que variaram de 0,5 a 1,0mg/kg e, que, apresentaram evolução de 4h35min a 9h (Schultz et al. 1982). Convém reportar que edema pulmonar foi descrito recentemente em dois bovinos (2/6) que receberam doses únicas de MF (Nogueira 2009) e, em outro, intoxicado com 0,5g/kg de *P. elegans*, cuja evolução foi mais longa do que o comum (73h12min) (Helayel 2008). De fato, segundo Jones et al. (2000) esse achado pode ser observado em casos de insuficiência cardíaca em que a morte não é imediata, cuja evolução estende-se por um ou mais dias.

Ao que tudo indica, os ovinos são mais resistentes a MF do que os bovinos, uma vez que a administração de doses únicas de 0,5mg/kg resultou na morte de todos os animais (3/3) (Nogueira 2009), ao passo que, a mesma dose quando administrada aos ovinos desse estudo, foi fatal apenas para um animal (1/2), após apresentar evolução longa (7h55min).

Embora os ovinos que receberam MF não tenham sido exercitados, é possível que o deslocamento do animal 5766, por cerca de 50 metros, bem como sua contenção física para a realização dos exames ecocardiográficos (ECG) tenha precipitado (no caso do 1º exame) e intensificado (no caso do 2º exame) os sintomas da intoxicação, devido a uma maior liberação de adrenalina, da qual pode resultar taquicardia, fibrilação e morte (Nogueira 2009). Convém lembrar que esse animal manifestou os primeiros sinais clínicos logo após o 1º exame ECG e que morreu 2 horas após o 2º exame. A influência do exercício sobre o aparecimento dos sintomas, já foi descrita, de forma semelhante, em ovinos intoxicados com *P. marcgravii* (Tokarnia et al. 1986) e *P. elegans* (Consorte et al. 1994).

Outra importante característica comum entre a intoxicação por plantas que causam “morte súbita” e por MF pôde ser evidenciada em nossos experimentos. Administrações diárias de 1/2,5 e 1/5 da dose letal do MF a ovinos demonstraram que esse composto possui efeito acumulativo, à semelhança com as descrições de ovinos intoxicados com frações da dose letal (1/2,5; 1/5 e 1/10) de *P. marcgravii* (Tokarnia et al. 1986) e (1/5, 1/10 e 1/20) de *P. elegans* (Consorte et al. 1994), bem como em diversos outros estudos realizados em bovinos intoxicados com PBCMS (Tokarnia et al. 1961, 1969, 1981, 1985, 2000, Tokarnia & Döbereiner 1986). Convém dizer que embora o efeito acumulativo de MF já tenha sido demonstrado em ovinos (Jarrett & Packham 1956, Anison et al. 1960) e em coelhos silvestres (Rowley 1963), já foi verificado que, sob certas condições experimentais, este composto não apresentou efeito acumulativo em ovinos (Schultz et al. 1982). Acreditamos que a explicação para essa discordância envolva o intervalo de tempo entre as administrações de MF, uma vez que segundo McEwan (1978) esse composto possui efeito acumulativo apenas quando administrado em doses repetidas por curtos períodos. De fato, nos experimentos realizados por Schultz et al. (1982), em geral, o intervalo entre a administração das frações da dose letal foram muito longos, por exemplo, foram realizadas de 6 a 10 administrações de 0,1mg/kg em 33 a 66 dias. Nesse ponto, uma comparação pode ser feita com os experimentos de acumulação realizados com plantas que causam “morte súbita”. Em bovinos, a administração de 1/2 da dose letal das folhas dessecadas de *M. pubiflora*, repetidas quatro vezes, com intervalos de uma semana mostraram que, em tais condições, a planta também não tem efeito acumulativo (Tokarnia & Döbereiner 1973). O mesmo foi observado em experimentos com folhas dessecadas de *P. juruana* administradas a bovinos em doses semanais de 1/5 e 1/10 da dose letal durante 7 a 18 semanas respectivamente (Tokarnia & Döbereiner 1982). Não obstante, Tokarnia & Döbereiner (1986) demonstraram que a administração de doses correspondentes a 1/5, 1/10 e 1/20 da dose letal de folhas dessecadas de *P. marcgravii* a bovinos, com intervalos de uma semana, durante 25, 30 e 30 semanas respecti-

vamente, não é capaz de provocar sintomas, ao passo que, administrações diárias de 1/5 e 1/10 da dose letal, evidenciaram o efeito acumulativo da planta. Com a redução do intervalo entre as administrações os bovinos manifestaram sintomas e morreram após a 5ª e 50ª administração, respectivamente. É interessante dizer que alguns autores atribuem o efeito acumulativo de MF, em grande parte, à baixa velocidade de eliminação desse composto pelo rim (Chenoweth 1949).

A avaliação ecocardiográfica realizada no Ovino 5766 evidenciou, inicialmente, moderada redução da fração de encurtamento (FE) sistólico do ventrículo esquerdo (30%), a qual tornou-se marcada (21%), após aproximadamente 32 horas. A comparação dos valores por nós obtidos com aqueles considerados referência para ovinos, 37,2% (Moses & Ross 1987), 42% (Dodic et al. 2001) e 40% (Rabbani et al. 2006), permite clara evidência do comprometimento da função cardíaca induzido pelo MF. Achados similares (FE = 32,4% e 29,5%) foram recentemente descritos em ovinos intoxicados com 20g/kg de *M. rigida* (Lago et al. 2009). De acordo com alguns autores, a redução da fração de encurtamento ocorre nas fases iniciais da insuficiência cardíaca e indicam alterações de ordem ventricular (Kittleson & Kienle 1998, Silva et al. 2008).

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

No presente estudo, a administração de MF em doses únicas ou em frações diárias da dose letal aos ovinos determinou, em todos os casos com desfecho fatal, o aparecimento da clássica degeneração hidrópico-vacuolar dos túbulos uriníferos contornados distais associada à picnose nuclear. Como na há menção específica a essa lesão em casos de intoxicação por MF nas mais diversas espécies, Peixoto et al. (2010) consideram provável que haja discordância quanto à nomenclatura empregada para a lesão.

O diagnóstico diferencial entre a intoxicação por MF e plantas que causam “morte súbita”, deve ser realizado, sobretudo, com base nos dados epidemiológicos, uma vez que não há quaisquer diferenças clínico-patológicas. Entretanto, devemos lembrar que, ao contrário do que ocorre em bovinos, a intoxicação de ovinos por plantas desse grupo, sob condições naturais, é pouco comum. São descritos apenas alguns surtos de intoxicação por *M. rigida* na Paraíba (Vasconcelos et al. 2008) e por *M. exotropa* no Rio Grande do sul (Bandarra et al. 2007). A intoxicação

criminoso por MF deve ser considerada em casos de “morte súbita” de ovinos, pois embora a comercialização desse composto esteja proibida no Brasil desde 1982 (Adesp 2007), sabe-se que ainda é ilegalmente comercializado por ambulantes (Apevisa 2009) e que, se armazenado sob condições adequadas, a sua toxidez é mantida por décadas (Eisler 1995). De fato, recentemente, pelo menos 73 animais morreram intoxicados, de forma criminoso, por esse composto na Fundação Parque Zoológico de São Paulo (Ortiz 2005).

REFERÊNCIAS

- Adesp 2007. Associação de Empresas Controladoras de Pragas do Estado. Disponível em <<http://www.adesp.org.br>> Acesso em 7.7.2007.
- Annisson E.F., Hill K.J., Lindsay D.B. & Peters R.A. 1960. Fluoroacetate poisoning in sheep. J. Comp. Pathol. 70:145-155.
- Apevisa 2009. Apevisa apreende 302 frascos com raticida ilegal. Disponível em <<http://www.saude.pe.gov.br/noticias.php?codigo=1066&pagina=2&publicar=1>> Acesso em 20.2.2009.
- Ballani T.S.L., Bauli J.D., Buriola A.A., Faria S.T. & Oliveira M.L.F. 2008. Intoxicação por produtos clandestinos em Maringá-paraná. I Congresso de Toxicologia Clínico-Laboratorial, Porto Alegre, em CD-ROM. (Resumo)
- Bandarra P.M., Colodel E.M., Raymundo D.L., Pedroso P.M.O, Borba M.R. & Driemeier D. 2007. Intoxicações em ruminantes por *Mascagnia* sp. no Rio Grande do Sul diagnosticadas no Setor de Patologia Veterinária (SPV-UFRGS). XII Encontro Nacional de Patologia Veterinária, Campo Grande, MS, em CD-ROM. (Resumo)
- Baron M.L., Bothroyd C.M., Rogers G.I., Staffa A. & Rae I.D. 1987. Detection and measurement of fluoroacetate in plant extracts by ¹⁹F-NMR. Phytochemistry 26(8):2293-2295.
- Basson P.A., Norval A.G., Hofmeyr J.M., Ebedes H. & Schultz R.A. 1982. Antelopes and poisonous plants. I. Gifblaar *Dichapetalum cymosum* (Hooker) Engler & Prantl containing monofluoroacetate. Madoqua 13(1):59-70.
- Bell A.T., Newton L.G., Everist S.L. & Legg J. 1955. *Acacia georginae* poisoning of cattle and sheep. Aust. Vet. J. 31:249-257.
- Chenoweth M.B. & Gilman A. 1946. Studies on the pharmacology of fluoroacetate L.: Species response to fluoroacetate. J. Pharm. Exp. Therap. 87:90-103.
- Chenoweth M.B. 1949. Monofluoroacetic acid and related compounds. J. Pharm. Exp. Therap. 97(4):383-424.
- Chung H.M. 1984. Acute renal failure caused by acute monofluoroacetate poisoning. Vet. Hum. Toxicol. 26:29-32.
- Coelho E.G., Amaral A.C.F., Ferreira J.L.P., Santos A.G., Pinheiro M.L.B. & Silva J.R.A. 2007. Calcium oxalate crystals and methyl salicylate as toxic principles of the fresh leaves from *Palicourea longiflora*, an endemic species in the Amazon state. Toxicon 49:407-409.
- Consorte L.B., Peixoto P.V. & Tokarnia C.H. 1994. Intoxicação experimental por *Pseudocalymma elegans* (Bignoniaceae) em ovinos. Pesq. Vet. Bras. 14(4):123-133.
- Cunha L.C. 2008. Avaliação dos efeitos tóxicos de *Mascagnia rigida* em ratos. Estudo anatomopatológico. Comparação entre metodologias cromatográficas para detecção do fluoroacetato de sódio. Dissertação de Mestrado em Patologia Experimental e Comparada, USP, São Paulo, SP. 100p.
- Döbereiner J. & Tokarnia C.H. 1959. Intoxicação de bovinos pela “erva-de-rato” (*Palicourea marcgravii* St. Hil.) no vale do Itapicuru, Maranhão. Arqs Inst. Biol. Anim., Rio de J., 2:83-91.

- Dodic M., Samuel C., Moritz K., Wintour E.M., Morgan J., Grigg L. & Wong J. 2001. Impaired cardiac functional reserve and left ventricular hypertrophy in adult sheep after prenatal dexamethasone exposure. *Circ. Res.* 89:623-629.
- Eisler R. 1995. Sodium monofluoroacetate (1080) hazards to fish, wildlife, and invertebrates: A synoptic review. Biological Report 27, U.S. National Biological Service, Patuxent Environmental Science Centre. 52p.
- Foss G.L. 1948. The toxicology and pharmacology of methyl fluoroacetate (MFA) in animals, with some notes on experimental therapy. *Brit. J. Pharmacol.* 3:118-127.
- Gajdusek D.C. & Luther G. 1950. Fluoroacetate poisoning: A review and report of a case. *Am. J. Dis. Child.* 79:310-320.
- González B., Suárez-Roca H., Bravo A., Salas-Auvert R. & Avila D. 2000. Chemical composition and biological activity of extracts from *Arrabidaea bilabiata*. *Pharm. Biol.* 38(4):287-290.
- Górniak S.L. 1986. *Palicourea marcgravii*: estudos em animais de laboratório. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo. 160p.
- Górniak S.L. 1988. Intoxicação por *Palicourea marcgravii*: uma abordagem experimental. Tese de Doutorado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo. 99p.
- Górniak S.L., Souza-Spinosa H., Palermo-Neto J., Ferro V.O. & Oliveira F. 1986. Chromatographic Isolation of caffeine from *Palicourea marcgravii*. *Vet. Hum. Toxicol.* 28(6):542.
- Gregg K., Hamdorf B., Henderson K., Kopečný J. & Wong C. 1998. Genetically modified ruminal bacteria protect sheep from fluoroacetate poisoning. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:3496-3498.
- Guimarães C.C. 1934. Herva de rato. *Vida Méd.* 2:324-333.
- Habermehl G. 1986. Comunicação pessoal. (Apud Górniak et al. 1986)
- Helayel M.A. 2008. Morte súbita em bovinos causada pela ingestão de *Pseudocalymma elegans* (Bignoniaceae) no município de Rio Bonito, RJ. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 91p.
- Hoehne F.C. 1939. Plantas e Substâncias Vegetais Tóxicas e Medicinais. *Graphicars*, São Paulo. 356p.
- Humphreys D.J. 1988. *Veterinary Toxicology*. 3rd ed. Bailliere Tindall, London. 356p.
- Jarret I.G. & Packham A. 1956. Response of sheep to sublethal doses of fluoroacetate. *Nature* 177:580-581.
- Jensen R., Tobiska J.W. & Ward J.C. 1948. Sodium fluoroacetate (Compound 1080) poisoning in sheep. *Am. J. Vet. Res.* 9:370-372.
- Jones T.C., Hunt R.D. & King N.W. 2000. *Patologia Veterinária*. 6^a ed. Editora Manole, Barueri. 1415p.
- Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. 2007. *Pathology of Domestic Animals*. Vol.3. 5th ed. Saunders Elsevier, Toronto. 737p.
- Kemmerling W. 1996. Toxicity of *Palicourea marcgravii*: Combined effects of fluoroacetate, Nmethyltyramine and 2-methyltetrahydro-beta-carboline. *Zeitschrift für Naturforschung* 51(1/2):59-64.
- Kittleson M.D. & Kienle R.D. 1998. *Small Animal Cardiovascular Medicine*. Mosby, St Louis. 603p.
- Krebs H.C., Kemmerling W. & Habermehl G. 1994. Qualitative and quantitative determination of fluoroacetic acid in *Arrabidaea bilabiata* and *Palicourea marcgravii* by F-NMR spectroscopy. *Toxicon* 32:909-913.
- Lago E.P., Melo M.M., Araújo R.B., Nascimento E.F., Silva E.F. & Melo M.B. 2009. Perfis eletrocardiográfico e ecodopplercardiográfico de ovinos após ingestão da suspensão aquosa de *Mascagnia rigida* Griseb. (Malpighiaceae). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 61(4):853-862.
- Marais S.T. 1944. Monofluoroacetic acid, the toxic principle of "Gifblaar" *Dichapetalum cymosum* (Hook). *Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Ind.* 20:67-73.
- McEwan T. 1964. Isolation and identification of the principle of *Gastrolobium grandiflorum*. *Queensl. J. Agric. Sci.* 21(2):1-14.
- McEwan T. 1978. Organo-fluorine compounds in plants, p.147-158. In: Keeler R.F., Van Kampen K.R. & James L.F. (Eds), *Effects of poisonous plants on livestock*. Academic Press, New York.
- Mello E.M.M. & Fernandes J.S. 1940. Contribuição ao estudo de plantas tóxicas brasileiras. Serviço de Informação Agrícola, Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro. 50p.
- Moses B.L. & Ross Jr J.N. 1987. M-mode echocardiographic values in sheep. *Am. J. Vet. Res.*, 48:1313-1318.
- Nogueira V.A. 2009. Intoxicação por monofluoroacetato de sódio em bovinos: aspectos clínicos e patológicos. Tese de Doutorado em Ciências Veterinárias, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 70p.
- Oelrichs P.B. & McEwan T. 1962. The toxic principle of *Acacia georginae*. *Qd J. Agric. Sci.* 19:1-16.
- Oliveira M.M. 1963. Chromatographic isolation of monofluoroacetic acid from *Palicourea marcgravii*, *St. Hil. Experientia* 19:586.
- Ortis M. 2005. Comissão externa destinada a acompanhar as investigações sobre o envenenamento de animais ocorrido na Fundação Zoológico de São Paulo (envenenamento no Zoológico de São Paulo). Disponível em <www.camara.gov.br/sileg/integras/292702.pdf> Acesso em 14.8.09.
- Peckolt T. 1868. Herva de rato. *Vida Méd.* 2:324-333. (Apud Guimarães 1934)
- Peixoto P.V., Nogueira V.A., França T.N., Peixoto T.C., Döbereiner J. & Tokarnia C.H. 2010. Relationship between the hydropic-vacuolar degeneration of the distal convoluted uniferous tubules, sodium monofluoroacetate poisoning and plants that cause sudden death in Brazil. (Submitted)
- Peters R.A. 1952. Lethal synthesis. *Proc. R. Soc. Lond. B, Biol. Sci.* 139(895):143-70.
- Rabbani S., Ahmadi H. & Fayazzadeh E., Sahebjam M., Boroumand M.A., Sotudeh M. & Nasiri M. 2006. Induced myocardial infarction using ligation of the left anterior descending coronary artery major diagonal branch: development of an ovine model. *J. Teh. Univ. Heart Ctr* 1(2):89-93.
- Rowley I. 1963. The effect on rabbits of repeated sublethal doses of sodium fluoroacetate. *Wildl. Res.* 8(1):52-55.
- Schultz R.A., Coetzer J.A.W., Kellerman T.S. & Naudé T.W. 1982. Observations on the clinical, cardiac and histopathological effects of fluoracetate in sheep. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 49:237-245.
- Sherley M. 2007. Is sodium fluoroacetate (1080) a humane poison? *Animal Welfare* 16:449-459.
- Silva E.F., Melo M.B., Muzzi R.A.L., Araújo R.B. & Tôres R.C.S. 2008. Índices ecodopplercardiográficos da função ventricular esquerda em cães da raça Boxer e Schnauzer Miniatura. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 60:71-75.
- Tokarnia C.H., Canella C.F.C. & Döbereiner J. 1961. Intoxicação por "tingui" (*Mascagnia rigida* Griseb.) em bovinos no nordeste do Brasil. *Arqs Inst. Biol. Anim., Rio de J.*, 4:203-215.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J., Canella C.F.C. & Guimarães D.J. 1969. Intoxicação experimental por *Pseudocalymma elegans* (Vell.) Kuhl. em bovinos. *Pesq. Agropec. Bras.* 4:195-204.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Silva M.F. 1981. Intoxicação por *Palicourea grandiflora* (Rubiaceae) em bovinos no Território de Rondônia. *Pesq. Vet. Bras.* 1(3):89-94.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1982. Intoxicação experimental por *Palicourea juruana* (Rubiaceae) em bovinos e coelhos. *Pesq. Vet. Bras.* 2(1):17-20.

- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1986. Intoxicação por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em bovinos no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 6(3):73-78.
- Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 1973. Intoxicação por *Mascagnia pubiflora* em bovinos no Estado do Mato Grosso. *Pesq. Vet. Bras.* 8:61-68.
- Tokarnia C.H., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 1986. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em ovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 6(4):121-131.
- Tokarnia C.H., Costa E.R., Barbosa J.D., Armien A.G. & Peixoto P.V. 1993. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em eqüinos. *Pesq. Vet. Bras.* 13(3/4):67-72.
- Tokarnia C.H., Peixoto P.V., Armien A.G., Barbosa J.D. & Driemeier D. 1995. Intoxicação experimental por *Pseudocalymma elegans* (Bignoniaceae) em eqüinos. *Pesq. Agropec. Bras.* 15(1):35-39.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Peixoto P.V. 2000. *Plantas Tóxicas do Brasil*. Editora Helianthus, Rio de Janeiro. 310p.
- Vasconcelos J.S., Riet-Correa F., Dantas A.F.M., Medeiros R.M.T., Galiza G.J.N., Oliveira D.M. & Pessoa A.F.A. 2008. Intoxicação por *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) em ovinos e caprinos. *Pesq. Vet. Bras.* 28(10):521-526.
- Zurita J.L., Jos A., Cameán A.M., Salguero M., López-Artíguez M. & Repetto G. 2007. Ecotoxicological evaluation of sodium fluoroacetate on aquatic organisms and investigation of the effects on two fish cell lines. *Chemosphere* 67:1-12.