

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

INTOXICAÇÃO POR *Crotalaria retusa* EM PEQUENOS RUMINANTES

LISANKA ÂNGELO MAIA

**PATOS-PB
2013**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

INTOXICAÇÃO POR *Crotalaria retusa* EM PEQUENOS RUMINANTES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da UFCG/CSTR, Campus de Patos-PB, em cumprimento do requisito necessário para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Mestranda: Lisanka Ângelo Maia

Orientador: Prof. Dr. Franklin Riet-Correa

PATOS-PB
2013

FICHA CATALOGADA NA BIBLIOTECA SETORIAL DO
CSTR / UFCG - CAMPUS DE PATOS – PB de acordo com a AACR2
Biblioteca Setorial - CSTR/UFCG – Campos de Patos-PB

M217i
2013

Maia, Lisanka Angelo

Intoxicação por *Crotalaria retusa* em pequenos ruminantes / Lisanka
Angelo Maia – Patos - PB: CSTR, UPGMV, 2013.

34f.

Inclui bibliografia

Orientador: Franklin Riet-Correa

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Centro de Saúde e
Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande).

1 – Toxicologia. 2 – Alcalóides pirrolizidínicos 3 – Ovinos. 4 –
Caprinos. 5- Resistência a intoxicação.

CDU: 615.9:619

LISANKA ÂNGELO MAIA

INTOXICAÇÃO POR *Crotalaria retusa* EM PEQUENOS RUMINANTES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da UFCG/CSTR, Campus de Patos-PB, em cumprimento do requisito necessário para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Franklin Riet-Correa - Orientador

Universidade Federal de Campina Grande – Campus de Patos-PB

Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária

Prof.Dr. Fábio de Souza Mendonça

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Gildenor Xavier Medeiros

Universidade Federal de Campina Grande – Campus de Patos-PB

Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária

**PATOS
2013**

*Dedico este trabalho a
Deus e a minha
família.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por renovar minha fé a cada dia e fazer-me perseverar mesmo quando os obstáculos pareciam-me intransponíveis.

Aos meus pais, Maria Lúcia Ângelo Maia e Antonio Forte Maia, por acreditarem em meus sonhos, sempre me apoiando e suportando a minha ausência.

Aos meus irmãos, Larissa e Júnior, pela amizade e por estarem presentes em minhas melhores recordações.

Aos professores Franklin Riet-Correa, Antônio Flávio Dantas, Verônica Medeiros da Trindade Nobre e Rosane Medeiros, pela oportunidade que me deram na pesquisa, pelo apoio, ensinamentos, paciência, e principalmente, pelo vínculo de amizade e confiança. A Sara Vilar, Gildenor Xavier, Eldinê Miranda, Felício Garino pela convivência e principalmente pelo exemplo de profissionalismo e dedicação.

A todos os colegas do Laboratório de Patologia pela convivência e por nunca se omitirem em dividir os seus conhecimentos e experiências.

A Tatiane, Gildenir, Ana Luisa, Beatriz, Adriana e demais membros da família patoense pela amizade sincera e por todos os momentos felizes compartilhados com vocês.

A todos os funcionários da instituição, pelo respeito e dedicação. Em especial, Maria das Neves (mãe Nevinha), Edinho, Gileno, Erivaldo e Seu José.

A todos que de uma forma ou de outra contribuíram para meu crescimento pessoal e profissional durante esse período.

Muito obrigada !

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1.** Cromatograma realizado por HPLC-esiMS (m/z 200 – 800) de um extrato metanólico bruto de sementes de *C. retusa* mostrando predominância de monocrotalina (A). Também são mostrados o padrão de fragmentação por MS/MS, a estrutura de confirmação da monocrotalina (B) e a curva de calibração com 6 pontos de quantificação ($y = 0.3589x^2 + 1.9876x + 0.932$; $R^2 = 0.9948$) (C)..... 17
- Figura 2.** Caprino 7. Fígado aumentado de volume com áreas avermelhadas intercaladas por áreas pálidas, distribuídas por toda superfície capsular. A vesícula biliar está distendida e com a parede edemaciada..... 19
- Figura 3.** Caprino 8. Fígado. Necrose hemorrágica centrolobular moderada associada a infiltrado inflamatório neutrofílico. HE. 10x..... 20

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1.	Intoxicação experimental com alcalóides pirrolozidínicos produzidos por <i>Crotalaria retusa</i> em caprinos. Dose ingerida, período de administração e resultado da intoxicação.....	18
------------------	---	----

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	11
Referências.....	12
CAPÍTULO I - Intoxicação natural e experimental com alcalóides pirrolozidínicos produzidos por <i>Crotalaria retusa</i> em caprinos.	14
Abstract.....	15
Resumo.....	15
Referências.....	21
CAPÍTULO II - Duração da resistência de ovinos a intoxicação por <i>Crotalaria retusa</i>.	23
Abstract.....	24
Resumo.....	25
Introdução.....	25
Material e Métodos.....	27
Resultados.....	28
Discussão.....	29
Conclusões.....	30
Referências.....	30
CONCLUSÕES.....	33
ANEXOS.....	34

RESUMO

A intoxicação por *Crotalaria retusa* é freqüente na Paraíba acometendo principalmente equinos, seguidos de ovinos e bovinos. O primeiro capítulo da dissertação relatou o primeiro surto de intoxicação espontânea por alcalóides pirrolizidínicos produzidos por *C. retusa* em caprinos e a reprodução experimental da doença também nessa espécie, enfatizando características clínicas e patológicas. *C. retusa* contendo aproximadamente 4,96% de monocrotalina (MCT) nas sementes, foi associada com um surto de intoxicação natural em caprinos. De um total de 30 caprinos, 4 adoeceram e morreram. A intoxicação foi reproduzida experimentalmente por administração de sementes de *C. retusa* contendo aproximadamente 4,49 % de MCT. Um de três caprinos que receberam dose única de 5 g/kg de sementes (248 mg MCT/kg pc) e dois caprinos que receberam dose única de 347 mg MCT/kg mostraram sinais clínicos agudos e foram eutanasiados 10 e 11 dias após administração. Os sinais clínicos, lesões macroscópicas e microscópicas foram característicos de necrose hepática centrolobular aguda. O segundo artigo, teve como objetivo determinar a duração da resistência de ovinos à intoxicação por *C. retusa* após o fim da ingestão continuada de doses não-tóxicas de sementes. Foram utilizados 10 ovinos, divididos em 3 grupos com 3 animais cada e um ovino controle. Para induzir resistência os ovinos dos grupos 1, 2 e 3 receberam durante 20 dias doses diárias de 2 g/kg de sementes, seguido de 7 dias de doses diárias de 4 g/kg. Para determinar a duração da resistência os ovinos dos grupos 1, 2 e 3 foram desafiados oralmente 3, 7 e 15 dias, respectivamente, após receberem a última dose de 4 g/kg, com uma dose única de 5 g/kg. Os ovinos dos grupos 1 e 2 não desenvolveram sinais de intoxicação. Dois ovinos do grupo desafiado 15 dias após o fim do período de indução de resistência, desenvolveram sinais de intoxicação aguda e morreram. Observou-se que em ovinos a resistência a monocrotalina, induzida por doses não-tóxicas repetidas, é de curta duração, variando entre 7 e 15 dias.

Palavras-chave: *Crotalaria retusa*, caprinos, alcalóides pirrolizidínicos, ovinos, resistência a intoxicação.

ABSTRACT

Crotalaria retusa poisoning is frequent in Paraíba primarily affecting equines, followed by sheep and cattle. This dissertation is formed by two papers. The first paper of the dissertation reported the first outbreak of poisoning by pyrrolizidine alkaloids produced by *C. retusa* in goats and the experimental reproduction of the disease in this species also, emphasizing clinical and pathological characteristics. *C. retusa*, estimated to contain about 4.96% monocrotaline (MCT) in the seeds, was associated with a natural poisoning outbreak in goats. From a total of 30 goats, 4 sickened and died. The poisoning was experimentally reproduced by the administration of *C. retusa* seeds containing about 4.49% of MCT. Thus, one of three goats given a single dose of 5 g/kg bw of seeds (248 mg MCT/kg bw) and two goats given a single dose of 347 mg MCT/kg bw showed acute clinical signs and were euthanized 10-11 days after dosing. Clinical signs and gross and histologic lesions were characteristic of acute centrilobular liver necrosis. The second paper, aimed to determine the duration of the resistance of sheep to poisoning by *C. retusa* after the end the administration of continuous non-toxic doses of seeds. Ten sheep were divided into 3 groups of 3 animals each and one control sheep. To induce resistance sheep in groups 1, 2 and 3 received during 20 days, daily doses of 2 g/kg of *C. retusa* seeds, followed by 7 daily doses of 4g/kg. To determine the duration of resistance the sheep in groups 1, 2 and 3 were challenged orally, 3, 7 and 15 days, respectively, after receiving the last dose of 4 g/kg, with a single dose of 5 g/kg. Sheep of groups 1 and 2 did not develop signs of poisoning. Two sheep of the group challenged 15 days after the end of the resistance induction period showed acute poisoning and died. These results suggest that, in sheep, resistance to monocrotaline, induced by repeated non-toxic doses is of short duration, from 7 to 15 days.

Keywords: *C. retusa*, goats, pyrrolizidine alkaloids, sheep, resistance to poisoning.

INTRODUÇÃO

A intoxicação por *Crotalaria retusa* é freqüente na Paraíba, causando alta mortalidade principalmente em equinos (Nobre et al. 2004, Pimentel et al. 2009), seguido de ovinos e bovinos (Nobre et al. 2005, Riet-Correa et al. 2011, Lucena et al. 2010). *C. retusa* contém como principal alcalóide pirrolizidínico (APs), a monocrotalina (Culvenor & Smith 1957). As formas de apresentação da intoxicação podem ser aguda ou crônica. A intoxicação crônica foi descrita em equinos (Nobre et al. 2004) e bovinos (Lucena et al. 2010), os ovinos desenvolvem principalmente a forma aguda da doença (Nobre et al. 2005, Riet-Correa et al. 2011). As formas de intoxicação aguda e crônica por *C. retusa* ainda não foram descritas em caprinos, no entanto esta espécie apresenta susceptibilidade semelhante a dos ovinos à intoxicação por plantas contendo alcalóides pirrolizidínicos. Referências sobre intoxicações experimentais por alcalóides pirrolizidínicos em caprinos são raras (Abu Damir et al. 1982, Goeger et al. 1982, Barri & Adam 1984).

Alternativas de controle e profilaxia das intoxicações por plantas que contém APs têm sido constantemente procuradas por profissionais. O pastoreio por ovinos em áreas invadidas por essas plantas é uma das práticas mais utilizadas (Riet-Correa & Méndez 2007), uma vez que ovinos são tidos como espécie mais resistente à intoxicação por plantas que contém APs (Hooper 1978, Cheeke 1994). Recentemente, Anjos et al. (2010) demonstraram que ovinos ingerindo doses baixas de sementes de *C. retusa* desenvolvem resistência a doses que causam intoxicação aguda. No entanto, torna-se necessário saber por quanto tempo dura a resistência de ovinos a intoxicação após a ingestão de pequenas doses da planta. Isso permitirá utilizar ovinos com segurança como controle biológico da planta.

No cumprimento às exigências requeridas pelo Programa de Pós- Graduação em Medicina Veterinária (PPGMV) da UFCG como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, esta dissertação é constituída por dois artigos que constituem dois capítulos. Os artigos foram formatados de acordo com o que estabelece a NORMA Nº 01/2011 de 03 de junho de 2011 do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da UFCG, Campus de Patos-PB (Anexo 1). O primeiro artigo é uma *Short communication* submetido à revista *Toxicon*, que relata o primeiro surto de intoxicação espontânea por alcalóides pirrolizidínicos produzidos por

C. retusa em caprinos e a reprodução experimental da doença também nessa espécie, enfatizando características clínicas e patológicas. O segundo trabalho determinou que a duração da resistência de ovinos à intoxicação por *C. retusa* é de curta duração, perdendo-se entre 7 e 15 dias após o final da ingestão.

Referências

- Abu Damir H., Adam S.E.I., Tartour G., 1982. The effects of *Heliotropium ovalifolium* on goats and sheep. Br. Vet. J. 138:434-472.
- Anjos B.L., Nobre V.M.T., Dantas A.F.M, Medeiros R.M.T, Neto T.S.O., Molyneux J.R., Riet-Correa F., 2010. Poisoning of sheep by seeds of *Crotalaria retusa*: Acquired resistance by continuous administration of low doses. Toxicon. 55:28-32.
- Barri M., Adam S., Omer O.H., 1984. Effects of *Crotalaria saltiana* on Nubian goats. Vet. Hum. Toxicol. 26:476-480.
- Cheeke P.R. 1994. A review of the functional and evolutionary roles of the liver in the detoxification of poisonous plants, with special reference to pyrrolizidine alkaloids. Vet. Human Toxicol. 36:240-247.
- Culvenor C.C., Smith L.W. 1957. The alkaloids of *Crotalaria retusa*. Aust. J. Chem. 465-473.
- Goeger D. E., Cheeke P. R., Schmitz J. A., Buhler D. R. 1982. Toxicity of feeding milk from goats fed transy ragwort (*Senecio jacobaea*) to goats. Am. J. Vet. Res. 43:252-254.
- Hooper P.T. 1978. Pyrrolizidine alkaloid poisoning – Pathology with particular reference to differences in animal and plant species. In Keeler, R., van Kampen, K. R., James, L. F. Effects of poisonous plants on livestock. New York: Academic Press. p. 600.
- Lucena R.B., Rissi D.R., Maia L.A., Flores M.M., Dantas A.F.M., Nobre V.M.T., Riet-Correa F. & Barros C.S.L. 2010. Intoxicação por alcalóides pirrolizidínicos em ruminantes e equinos no Brasil. Pesq. Vet. Bras. 30(5):447-452.
- Nobre V.M.T., Riet-Correa F., Barbosa Filho J.M., Dantas A.F., Tabosa I.M. Vasconcelos J. S. 2004. Intoxicação por *Crotalaria retusa* (Fabaceae) em Equídeos no semi-árido da Paraíba. Pesq. Vet. Bras. 24:132-143.

- Nobre V.M.T., Dantas A.M.T., Riet-Correa F., Barbosa FILHO J.M., Tabosa I.M., Vasconcelos J.S., 2005. Acute intoxication by *Crotalaria retusa* in sheep. *Toxicon*. 45:347-352.
- Pimentel L.A., Oliveira D.M., Galiza G.J.N., Rego R.O., Dantas A.F.M. & Riet-Correa F. 2009. Doenças do sistema nervoso central de equídeos no semi-árido. *Pesq. Vet. Bras.* 29:589-597.
- Riet-Correa F. & Méndez M.C. 2007. Intoxicações por plantas e micotoxinas. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (Eds), *Doença de Ruminantes e Equídeos*. Pallotti, Santa Maria, p.99-221.
- Riet-Correa F., Carvalho K. S., Dantas A. F. M., Medeiros R.M.T. 2011. Spontaneous acute poisoning by *Crotalaria retusa* in sheep and biological control of this plant with sheep. *Toxicon*. 58:606–609.

CAPÍTULO I

Intoxicação natural e experimental com alcalóides pirrolozidínicos de *Crotalaria retusa* em caprinos

O presente trabalho foi formatado, segundo as normas da revista *Toxicon* (Anexo 2). O artigo foi submetido em 12 de dezembro de 2012 (Anexo 3).

Intoxicação natural e experimental com alcalóides pirrolozidínicos de *Crotalaria retusa* em caprinos

Lisanka Ângelo Maia^a, Ricardo Barbosa de Lucena^a, Verônica Medeiros da Trindade Nobre^a, Antônio Flávio Medeiros Dantas^a, Steven M. Colegate^c, Franklin Riet-Côrrea^a

^a Veterinary Hospital, Federal University of Campina Grande (UFCG), Patos, Paraíba 58700-000, Brazil.

^c Poisonous Plant Research Laboratory, Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture, 1150 E. 1400 N., Logan, Utah 84341, USA.

ABSTRACT

Crotalaria retusa L., estimated to contain about 4.96% monocrotaline (MCT) in the seed, was associated with a natural poisoning outbreak in goats. The poisoning was experimentally reproduced by the administration of *C. retusa* seeds containing about 4.49% of MCT. Thus, one of three goats given a single dose of 5 g/kg bw of seeds (248 mg MCT/kg bw) and two goats given a single dose of 347 mg MCT/kg bw showed acute clinical signs and were euthanized 10-11 days after dosing. Clinical signs and gross and histologic lesions were characteristic of acute centrilobular liver necrosis.

Key words: acute poisoning, goats, liver necrosis, monocrotaline, pyrrolizidine alkaloids.

RESUMO

Crotalaria retusa L., contendo aproximadamente 4,96% de monocrotalina (MCT) nas sementes, foi associada com um surto de intoxicação natural em caprinos. A intoxicação foi reproduzida experimentalmente por administração de sementes de *C. retusa* contendo aproximadamente 4,49 % de MCT. Um de três caprinos que receberam dose única de 5 g/kg pv de sementes (248 mg MCT/kg pc) e dois caprinos que receberam dose única de 347 mg MCT/kg pc mostraram sinais clínicos agudos e foram eutanasiados 10 e 11 dias após administração. Sinais clínicos e lesões macroscópicas e microscópicas foram característicos de necrose hepática centrolobular aguda.

Palavras-chaves: intoxicação aguda, caprinos, necrose hepática, monocrotalina, alcalóides pirrolizidínicos.

Crotalaria retusa L. (Fabaceae) foi relatada na Paraíba, região Nordeste do Brasil, como causa de intoxicação crônica em equinos (Nobre et al., 2004a) e intoxicação aguda em ovinos (Nobre et al., 2005; Riet-Correa et al., 2011). Casos de fibrose hepática associada ao consumo de *C. retusa* têm sido relatado em bovinos (Nobre et al., 2004b) mas não pode ser reproduzida experimentalmente nesta espécie pela administração contínua de baixas doses de MCT (monocrotalina), o principal alcalóide de deidropirrolizidina (DHPA) produzido por *C. retusa* (Anjos et al., 2010).

Não há relatos de intoxicação natural por alcalóides pirrolizidínicos em caprinos, mas as lesões de intoxicação crônica relacionadas com DHPA foram reproduzidas experimentalmente a partir da administração de *Senecio jacobaea* em cabras (Goeger et al., 1982). Entretanto, em trabalhos experimentais com *Crotalaria saltiana* (Barri et al., 1984) e *Heliotropium ovalifolium* (Abu Damir et al., 1982), as lesões típicas de intoxicação aguda ou crônica relacionada ao DHPA não foram relatadas.

Um surto espontâneo de intoxicação associado com sementes de *C. retusa* ocorreu no município de Patos, em setembro de 2008. De um total de 30 caprinos sem raça definida, entre jovens e adultos, 4 (13,3%) adultos adoeceram e morreram. Os animais eram criados extensivamente em uma área de pasto nativo (caatinga), mas alguns animais adultos invadiram uma área na fazenda que estava infestada por *C. retusa* e consumiram folhas e sementes. Os principais sinais clínicos, descritos pelo proprietário foram salivação espumosa e letargia. A morte ocorreu entre 24 e 48 horas após o início dos sinais clínicos. Um caprino, foi necropsiado e seus tecidos foram examinados histologicamente.

No fígado observou-se acentuação do padrão lobular, caracterizada por áreas avermelhadas entremeadas por áreas pálidas, distribuídas por toda superfície capsular e no parênquima. Observou-se também área focal de hemorragia na superfície capsular do fígado com aderências no diafragma e peritônio. Múltiplas hemorragias foram observadas no tecido subcutâneo, músculo oblíquo externo do abdômen e omento maior. A superfície pleural do pulmão estava avermelhada e ao corte fluía sangue. Líquido avermelhado estava presente no saco pericárdio e petéquias foram observadas no pericárdio e endocárdio. Histologicamente, o fígado apresentava necrose

hemorrágica centrolobular. Os hepatócitos da região médio zonal estavam aumentados e com vacuolização citoplasmática moderada. Nenhuma lesão significativa foi observada nos outros órgãos examinados incluindo pulmão, coração, rim, vesícula biliar, linfonodos, intestino delgado e grosso, pré- estômagos e sistema nervoso.

Para investigar o papel da *C. retusa* no surto da intoxicação, sementes foram coletadas nos municípios de São José do Bonfim e Coremas, no estado da Paraíba. Análise do extrato metanólico das sementes foi realizada por HPLC-esiMS como previamente descrito por outras plantas produtoras de DHPA (Colegate et al., 2012a, 2012b), utilizando monocrotalina como padrão de calibração. A análise revelou um conteúdo de MCT de 4,49% e 4,96 % para as sementes coletadas no momento e local do surto de intoxicação natural e as sementes coletadas para investigação experimental, respectivamente. A MCT constituiu aproximadamente 99% do conteúdo de DHPA das sementes. Traços de monocrotalina-N-óxido e dois diesteres macrocíclicos relacionados também foram observados (Figura 1).

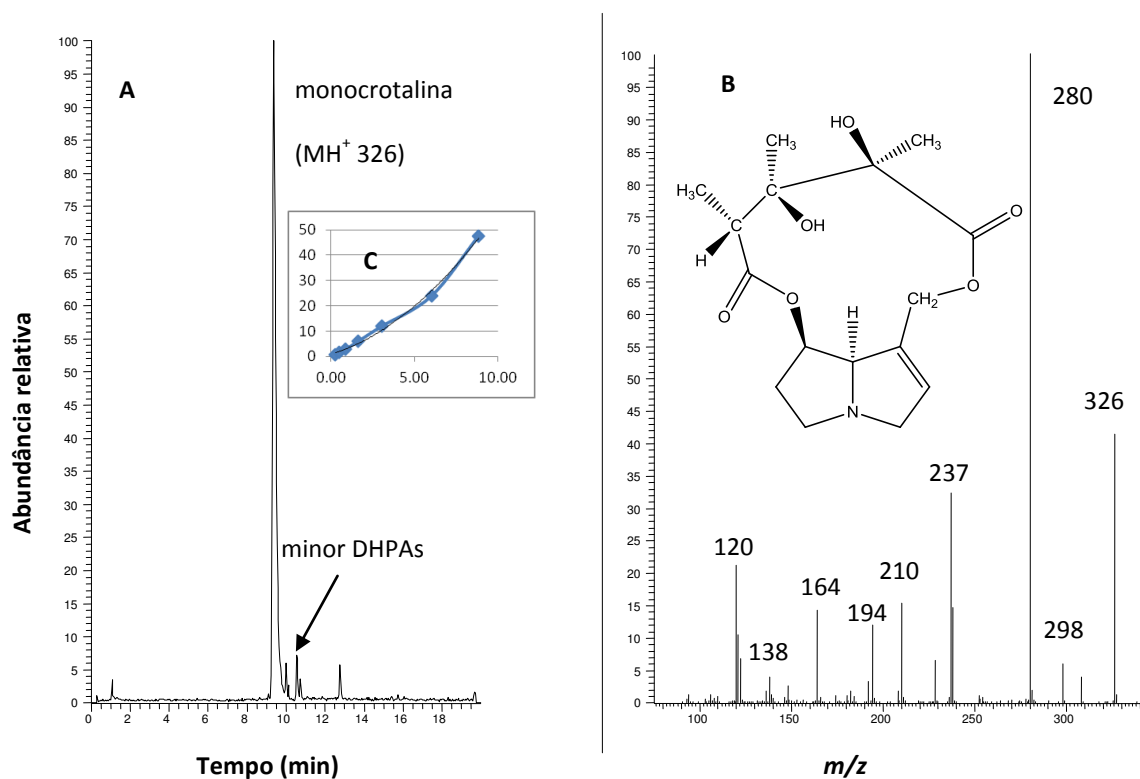


Figura 1. Cromatograma realizado por HPLC-esiMS (m/z 200 – 800) de um extrato metanólico bruto de sementes de *C. retusa* mostrando predominância de monocrotalina (A). Também são mostrados o padrão de fragmentação por MS/MS, a estrutura de confirmação da monocrotalina (B) e a curva de calibração com 6 pontos de quantificação ($y = 0.3589x^2 + 1.9876x + 0.932$; $R^2 = 0.9948$) (C).

Onze caprinos, com 1 a 2 anos de idade, da raça Moxotó foram divididos em 3 grupos de 3 animais e um grupo de dois. Os caprinos dos grupos 1 (caprinos 1, 2 e 3), 2 (caprino 4, 5 e 6) e 3 (caprinos 7 e 8) receberam por gavagem sementes de *C. retusa* misturadas com água em diferentes doses (Tabela 1). Os animais do grupo 4 (caprinos 9,10 e 11) não receberam sementes e serviram de controle. Amostras de sangue foram coletadas nos dias 0, 4, 10 e 30 de todos os animais para determinação da atividade sérica das enzimas gama-glutamyltransferase (GGT) e aspartato aminotransferase (AST).

Tabela 1. Intoxicação experimental com alcalóides pirrolozidínicos produzidos por *Crotalaria retusa* em caprinos. Dose ingerida, período de administração e resultado da intoxicação.

Caprino	Dose de sementes (g/kg pc)	Dose de MCT (mg/kg pc)	Resultado da intoxicação	
			Início dos sinais clínicos (dias após a administração)	Eutanasia (dias após o primeiro sinal clínico)
1	3	148.3	Ausência de sinais clínicos	-
2	3	148.3	Ausência de sinais clínicos	-
3	3	148.3	Ausência de sinais clínicos	-
4	5	248.0	5	10
5	5	248.0	Sinais clínicos transitórios	-
6	5	248.0	Ausência de sinais clínico	-
7	7	347.0	5	11
8	7	347.0	5	10

Os sinais clínicos foram observados apenas em três caprinos em dois grupos (Tabela 1). Todos os caprinos clinicamente afetados foram eutanasiados *in extremis* como indicado na tabela 1. Os sinais clínicos incluíam apatia, anorexia, atonia ruminal, gemidos, bruxismo, decúbito esternal seguido de decúbito lateral.

Nos caprinos 4,7 e 8, que apresentaram sinais clínicos, a atividade sérica da AST estava aumentada nos dias 4 e 10, variando de 72 a 119 UI/L. Durante esse mesmo período a atividade sérica de GGT variou de 150 a 380 UI/L. No caprino 5, que mostrou sinais clínicos transitórios, a concentração sérica de GGT estava aumentada no dia 4

(75 UI/L) retornando ao normal no dia 10 (42 UI/L). Nos caprinos 1, 3 e 10 as atividades séricas de AST (76-88 UI/L) e GGT (28-31 UI/L) estavam dentro da normalidade.

Na necropsia dos caprinos 4,7 e 8, havia marcada acentuação do padrão lobular do fígado, caracterizada por áreas vermelhas intercaladas com áreas pálidas distribuídas na superfície capsular e no parênquima (Figura 2). A vesícula biliar estava aumentada e com severo edema da parede (Figura 2). Petéquias foram observadas na superfície do epicárdio, endocárdio e mucosa abomasal e duodenal. Ascite, edema do omento e do mesentério foram também observadas.



Figura 2. Caprino 7. Fígado aumentado de volume com áreas avermelhadas intercaladas por áreas pálidas, distribuídas por toda superfície capsular. A vesícula biliar está distendida e com a parede edemaciada.

A principal lesão histológica foi observada no fígado e caracterizou-se por necrose hemorrágica centrolobular (Figura 3), variando de moderada a acentuada associada a moderado infiltrado inflamatório neutrofílico.

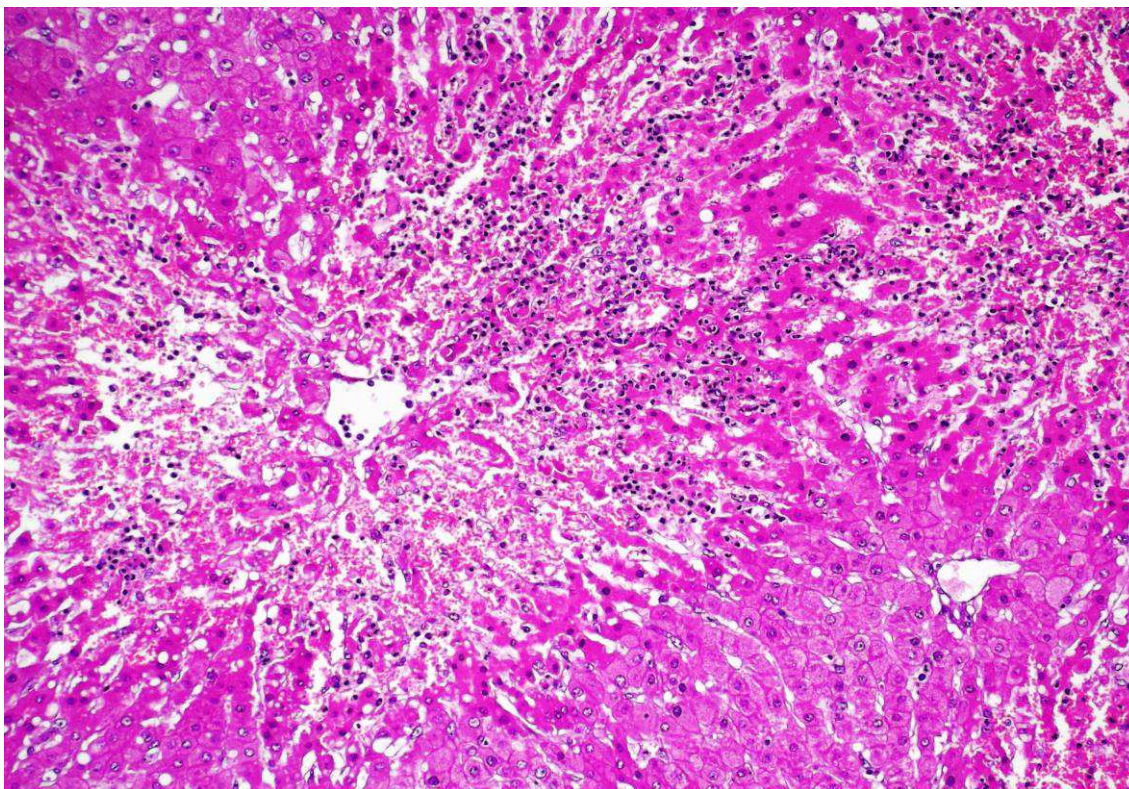


Figura 3. Caprino 8. Fígado. Observa-se necrose hemorrágica centrolobular moderada associada a infiltrado inflamatório neutrofílico. HE.10x.

O diagnóstico de intoxicação aguda espontânea por *C. retusa* em caprinos foi realizado com base em dados epidemiológicos e lesões macroscópicas e histológicas. Os sinais clínicos, achados de necropsia e histopatologia dos casos experimentais foram semelhantes aos observados na intoxicação espontânea e aos descritos na intoxicação aguda por *C. retusa* em ovinos (Nobre et al., 2005; Anjos et al., 2010; Riet-Correa et al., 2011).

Caprinos e ovinos são considerados relativamente resistentes aos efeitos da intoxicação crônica por DHPAs (Hooper, 1978). Neste trabalho comprovou-se que qualquer dose tóxica de monocrotalina causa doença aguda com necrose hepática. As doses tóxicas para caprinos foram semelhantes as observadas para ovinos (Nobre et al.,

2005; Anjos et al., 2010), sugerindo que ovinos e caprinos apresentam susceptibilidade semelhante à intoxicação por monocrotalina.

Conflitos de interesse

Os autores declaram que não há conflitos de interesse.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para Controle de Intoxicações por Plantas, CNPq, processo 573534/2008-0.

Referências

- Abu Damir, H., Adam, S.E.I., Tartour, G., 1982. The effects of *Heliotropium ovalifolium* on goats and sheep. Br. Vet. J. 138, 434-472.
- Anjos, B.L., Nobre, V.M.T., Dantas, A.F.M, Medeiros, R.M.T, Neto, T.S.O., Molyneux, J.R., Riet-Correa, F. 2010. Poisoning of sheep by seeds of *Crotalaria retusa*: Acquired resistance by continuous administration of low doses. Toxicon 55, 28–32.
- Barri, M., Adam, S., Omer, O.H., 1984. Effects of *Crotalaria saltiana* on Nubian goats. Vet. Hum. Toxicol. 26, 476-480.
- Colegate, S.M., Gardner, D.R., Davis, T.Z., Panter, K.E., Betz, J.M., 2012a. Dehydropyrrolizidine Alkaloids in Two Cryptantha Species: Including Two New Open Chain Diesters One of Which is Amphoteric. Phytochem. Anal. (wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/pca.2400.
- Colegate, S.M., Gardner, D.R., Joy, R.J., Betz, J.M., Panter, K.E., 2012b. Dehydropyrrolizidine Alkaloids, Including Monoesters with an Unusual Esterifying Acid, from Cultivated *Crotalaria juncea* (Sunn Hemp cv. 'Tropic Sun') J. Agric. Food Chem. 60, 3541–3550.
- Goeger, D. E., Cheeke, P. R., Schmitz, J. A., Buhler, D. R. 1982. Toxicity of feeding milk from goats fed transy ragwort (*Senecio jacobaea*) to goats. Am. J. Vet. Res. 43, 252-254.

- Hooper, P.T. Pyrrolizidine alkaloid poisoning – Pathology with particular reference to differences in animal and plant species. In Keeler, R., van Kampen, K. R., James, L. F. Effects of poisonous plants on livestock. New York: Academic Press. 1978, p. 600.
- Nobre, V.M.T., Riet-Correa F., Barbosa Filho, J.M., Dantas, A.F., Tabosa, I.M. Vasconcelos, J. S. 2004a. Intoxicação por *Crotalaria retusa* (Fabaceae) em Eqüídeos no semi-árido da Paraíba. Pesq. Vet. Bras. 24, 132-143.
- Nobre, V.M.T., Riet-Correa F., Dantas, A.F., Tabosa, Medeiros. R. M.T., Barbosa Filho J.M. Intoxication by *Crotalaria retusa* in ruminants and equidae in the state of Paraíba, Northeastern Brazil. 2004b. Cap. 41. In: Poisonous plants and related toxins. Edited by: Acamovic T., Stewart C.S. and Pennycott T. W. Ed. Glasgow: CAB International. P. 275-279.
- Nobre, V.M.T., Dantas, A.M.T., Riet-Correa, F., Barbosa FILHO, J. M., Tabosa, I.M., Vasconcelos, J.S., 2005. Acute intoxication by *Crotalaria retusa* in sheep. Toxicon. 45, 347-352.
- Riet-Correa, F., Carvalho, K. S., Dantas, A. F. M., Medeiros, R.M.T. 2011. Spontaneous acute poisoning by *Crotalaria retusa* in sheep and biological control of this plant with sheep. Toxicon. 58, 606–609.

CAPÍTULO II

Duração da resistência de ovinos a intoxicação por *Crotalaria retusa*

O presente trabalho foi formatado, segundo as normas da revista *Journal of Applied Toxicology* (Anexo 4).

Duração da resistência de ovinos à intoxicação por *Crotalaria retusa*

Lisanka A. Maia^a, Clarice R. M. Pessoa^a, Angélica F. Rodrigues^a, Steven M. Colegate^b,
Antônio F. M. Dantas^a, Rosane M. T. Medeiros^a, Franklin Riet- Correia^{a*}

* *Correspondence to:* Franklin Riet-Correia, Veterinary Hospital, CSTR, Federal University of Campina Grande, Campus de Patos, Patos, Paraíba 58700-000, Brazil. franklin.riet@pq.cnpq.br

^a Veterinary Hospital, Federal University of Campina Grande (UFCG), Patos, Paraíba 58700-000, Brazil.

^b Poisonous Plant Research Laboratory, Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture, 1150 E. 1400 N., Logan, Utah 84341, USA.

ABSTRACT: Seeds of *Crotalaria retusa* L. cause acute poisoning in sheep at a dose of 5 g/kg body weight (g/kg), but become resistant with repeated smaller doses. The aim of this study was to determine the duration of the resistance after the end of the ingestion of non-toxic doses of the plant seeds. Ten sheep were divided into 3 groups of 3 animals each and one control sheep. To induce resistance sheep of groups 1, 2 and 3 received during 20 days, daily doses of 2 g/kg of seed, followed by seven daily doses of 4 g/kg. To determine the duration of resistance the sheep in groups 1, 2 and 3 were challenged orally, 3, 7 and 15 days, respectively, after receiving the last dose of 4 g/kg, with a single dose of 5 g/kg. Sheep of groups 1 and 2 did not develop signs of poisoning. Two sheep of the group challenged 15 days after the end of the resistance induction period showed acute poisoning and died. These results suggest that, in sheep, resistance to monocrotaline, induced by repeated non-toxic doses is of short duration, from 7 to 15 days.

Keywords: *C. retusa*, pirrolizidine alkaloids, sheep, resistance to poisoning.

RESUMO. Sementes de *Crotalaria retusa* causam intoxicação aguda em ovinos na dose de 5g/kg de peso corporal (g/kg), no entanto, ovinos desenvolvem resistência a doses menores repetidas. O objetivo deste trabalho foi determinar a duração da resistência de ovinos à intoxicação por *C. retusa* após o fim da ingestão de doses não-tóxicas de sementes. Foram utilizados 10 ovinos, divididos em três grupos com três animais cada e um ovino controle. Para induzir resistência os ovinos dos grupos 1, 2 e 3 receberam, durante 20 dias, doses diárias de 2 g/kg de sementes, seguido de sete doses diárias de 4 g/kg. Para determinar a duração da resistência os ovinos dos grupos 1, 2 e 3 foram desafiados oralmente 3, 7 e 15 dias, respectivamente, após receberem a última dose de 4 g/kg, com uma dose única de 5 g/kg. Os ovinos dos grupos 1 e 2 não desenvolveram sinais de intoxicação. Dois ovinos do grupo desafiado 15 dias após o fim do período de indução de resistência, desenvolveram sinais de intoxicação aguda e morreram. Estes resultados sugerem que em ovinos a resistência à monocrotalina, induzida por doses não-tóxicas repetidas, é de curta duração, variando entre 7 e 15 dias.

Palavras-chave: *Crotalaria retusa*, alcalóides pirrolizidínicos, ovinos, resistência à intoxicações.

INTRODUÇÃO

No Brasil são descritos surtos espontâneos de intoxicação por diversas espécies de plantas contendo alcalóides pirrolizidínicos (APs), incluindo intoxicação por *Senecio* spp. (Riet-Correa & Méndez 2007, Gava & Barros 1997, Karam *et al.*, 2004, Basile *et al.*, 2005, Ilha *et al.*, 2001, Grecco *et al.*, 2011), *Echium plantagineum* (Méndez *et al.*, 1985) e *Crotalaria retusa* (Nobre *et al.*, 2004, Nobre *et al.*, 2005, Riet-Correa *et al.*, 2011, Lucena *et al.*, 2010). Dentre essas plantas tóxicas *C. retusa* é a mais importante na Paraíba. O principal AP encontrado na *C. retusa* é a monocrotalina (Culvenor & Smith 1957). Em estudo retrospectivo de enfermidades do sistema nervoso central de equídeos, esta intoxicação foi a mais frequente, responsável por 16% de todas as mortes nessa espécie desde o primeiro diagnóstico no ano de 1993 (Pimentel *et al.*, 2009). A intoxicação por *C. retusa* nessa região também ocorre com menor frequência em ovinos, bovinos e caprinos (Nobre *et al.*, 2005, Riet-Correa *et al.*, 2011, Lucena *et al.*, 2010).

Tentativas de controlar intoxicações por plantas que contém APs por métodos tradicionais, incluindo a utilização de herbicidas, o uso de cercas para isolar as áreas onde as plantas ocorrem, ou a eliminação das mesmas por métodos mecânicos incluindo arrancar, queimar ou cortar a planta e arar o solo não têm tido o êxito esperado (Riet-Correa & Méndez 2007). Considerando que ovinos e caprinos são as espécies mais resistentes a intoxicação por APs, (Cheeke 1994), o pastoreio por essas espécies em áreas invadidas por plantas do gênero *Senecio* é uma das práticas mais utilizadas como alternativa de controle e profilaxia (Riet-Correa & Méndez 2007). A utilização de 20 ovinos por hectare em pastoreio por um período de 30 dias ou 0,43 ovinos por hectare em pastoreio contínuo em regiões invadidas por *Senecio* spp. tem sido bem sucedida no controle da planta (Soares *et al.*, 2000). Experimentalmente uma lotação de 2,9 ovinos por hectare eliminou em um prazo de dois anos, *Senecio madagascariensis* e *Senecio brasiliensis* de uma área severamente infestada (Bandarra *et al.*, 2012). Entretanto, surtos de intoxicação podem ocorrer quando esta lotação é menor que 0,2 ovinos por hectare e há carência acentuada de forragem (Grecco *et al.*, 2011). De acordo com Grecco (2012) a resistência de ovinos a intoxicação por *S. brasiliensis* está associada à ingestão contínua de pequenas quantidades da planta. No entanto esta suposta resistência é perdida se os ovinos deixam de ingerir a planta.

Recentemente, foi demonstrado que ovinos são susceptíveis à intoxicação aguda por monocrotalina e podem ser intoxicados por uma única dose oral de cerca de 205,2 mg/kg de peso corporal. Em contrapartida, eles desenvolvem uma grande resistência a monocrotalina após a ingestão diária de doses não tóxicas (136,8 mg/kg), o que sugere que esses animais sejam utilizados para controle biológico da planta (Anjos *et al.*, 2010). Com base nessas observações, em um recente surto de intoxicação aguda, 34 ovinos de um total de 150 introduzidos em um pasto invadido por *C. retusa* sementando foram afetados. Durante o surto, o rebanho foi removido da área. Após o diagnóstico de intoxicação, 20 ovelhas do rebanho foram reintroduzidos no campo. Eles continuaram pastando *C. retusa* mas, não se intoxicaram. Após três anos, devido ao pastejo contínuo, *C. retusa* desapareceu no campo, sugerindo que os ovinos resistentes podem ser usados para controlar *C. retusa* (Riet-Correa *et al.*, 2011).

No entanto, para utilizar ovinos no controle biológico de *C. retusa* é necessário determinar por quanto tempo a resistência dos ovinos à intoxicação por *C. retusa* permanece após o final da ingestão de pequenas doses da planta.

MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de *C. retusa* foram colhidas no município de Serra Negra do Norte, no estado do Rio Grande do Norte. O percentual de monocrotalina nas sementes foi determinado por HPLC-esiMS utilizando monocrotalina (MCT) como padrão de calibração (Colegate et al. 2012a, 2012b).

Foram utilizados 10 ovinos machos, da raça Santa Inês. Os ovinos foram divididos em três grupos com três animais cada e um quarto grupo com um animal. Com o objetivo de induzir resistência, os ovinos dos grupos 1, 2 e 3 receberam, durante 20 dias doses de 2 g/kg de peso corporal (g/kg) de sementes de *C. retusa*, seguidos de sete doses de 4 g/kg durante 7 dias. Para isso as sementes foram adicionados a farelo de milho, o qual foi administrado em quantidade equivalente a 1% do peso vivo. O animal do grupo 4 não passou por esse processo e serviu de testemunha. As doses utilizadas foram determinadas baseadas no trabalho realizado por Anjos (2010). Todos os animais foram pesados no início do experimento e, semanalmente, para correção das doses de sementes de *C. retusa*. Durante o experimento todos os animais receberam farelo de milho, em quantidade equivalente a 1% do peso vivo, capim *Echinochloa polystachya* e água *ad libitum*.

Para determinar a duração da resistência os animais dos grupos 1, 2 e 3 foram desafiados, 3, 7 e 15 dias após o final do período de indução de resistência, respectivamente, por via oral, com uma dose única de 5 g/kg responsável por causar intoxicação aguda.

No período de indução de resistência, amostras de sangue foram coletadas no início da administração, 24 e 72 horas após a mesma e, posteriormente, a cada semana. Após o desafio também foram coletadas amostras de sangue às 24, 48, 72 horas e, posteriormente, a cada semana. A atividade sérica das enzimas Gama Glutamil Transferase (GGT) e Aspartato aminotransferase foram mensuradas de acordo com Thrall *et. al.* (2012) e os valores de referência foram obtidas de acordo com o grupo controle (AST 104 a 136 UI/L e GGT 22 a 38 UI/L).

Os animais que apresentaram sintomatologia grave foram eutanasiados e imediatamente necropsiados. Amostras de órgãos das cavidades abdominal e torácica e encéfalo foram coletadas e fixadas em formol tamponado a 10%, incluídas em parafina, processadas rotineiramente e coradas por hematoxilina-eosina para estudos histológicos.

RESULTADOS

A análise das sementes de *C. retusa* por HPLC-esiMS revelou concentração de 5.86% (5.65% – 6.07%) de MCT.

Os ovinos dos grupos 1 e 2 que foram desafiados 3 e 7 dias após o período de indução de resistência, respectivamente, não desenvolveram sinais de intoxicação. Dois dos ovinos que foram desafiados 15 dias após o período de indução de resistência, apresentaram sinais clínicos da intoxicação e foram eutanasiados *in extremis*, 12 dias após a ingestão da dose de 5g/kg.

Os sinais clínicos foram manifestados apenas dois dias após o desafio e caracterizaram, inicialmente, por depressão e anorexia. Posteriormente, os sinais se agravaram observando-se diarreia discreta. Um ovino apresentou hiperexcitabilidade, ataxia, hipermetria e andar em círculos. No 12º dia os animais estavam em decúbito permanente e foram eutanasiados.

Alterações bioquímicas foram observadas apenas durante o período de desafio. A atividade das enzimas AST e GGT estava elevada em todos os animais do grupo 3 (ovinos 7, 8 e 9). Nos ovinos 7 e 8, as atividades séricas de AST (639 UI/L, 513UI/L) e GGT (206 UI/L, 160 UI/L) aumentaram 24 horas após o desafio, mantendo-se elevadas até o dia da morte. O ovino 9 que sobreviveu, teve atividades séricas de AST e GGT elevados 48 e 72 após o desafio, voltando ao normal no 9º dia. Em um animal do grupo 1, (ovino 1), as atividades séricas de AST (240 UI/L) e GGT (68 UI/L) estavam elevados 24 horas após ter recebido a dose desafio voltando a níveis normais no 3º dia, permanecendo nesses níveis até o fim do experimento. Nos demais ovinos do grupo 1 (ovinos 2 e 3) e em todos os ovinos do grupo 2 (ovinos 4,5 e 6) as atividades séricas de GGT e AST mantiveram-se dentro da normalidade.

Na necropsia dos dois ovinos que foram eutanasiados, observou-se fígado com acentuação do padrão lobular caracterizado por áreas avermelhadas entremeadas por áreas pálidas, melhor evidenciadas na superfície de corte. A vesícula biliar estava distendida e edemaciada com parede espessada. No coração haviam áreas multifocais de hemorragia nas superfícies subepicárdica e subendocárdica. A principal lesão histológica foi observada no fígado e caracterizava-se por necrose e hemorragia centrolobular variando de moderada a acentuada, por vezes formando pontes. Hepatócitos com vacúolos intracitoplasmáticos de tamanhos variados foram observados

em meio a necrose e tecido hepático remanescentes. No sistema nervoso central havia vacúolos característicos de encefalopatia hepática principalmente no colículo rostral, tálamo, pedúnculo cerebelar, córtex frontal, parietal e cerebelo.

DISCUSSÃO

Os resultados deste trabalho confirmam a resistência de ovinos a intoxicação por *C. retusa* e determinam que a duração dessa resistência pode variar entre 7 e 15 dias, uma vez que todos os animais desafiados com doses tóxicas de 5 g/kg de sementes de *C. retusa*, 3 e 7 dias após ter cessado a ingestão fracionada, sobreviveram à intoxicação. Resultados semelhantes foram observados por Grecco et. al. (2012) em experimentos com folhas e talos de *Senecio brasiliensis*. Os ovinos suportaram a dose que induz intoxicação aguda quando desafiados um dia após a ingestão das doses diárias de 15 g/kg de *S. brasiliensis* por 30 dias e 30 g/kg por 10 dias. Entretanto, os ovinos que foram desafiados 15 e 45 dias após ter cessado a ingestão fracionada de *S. brasilienses* morreram 6 horas após o desafio. Os resultados observados com *S. brasilienses* e *C. retusa* sugerem que a resistência de ovinos a intoxicação por alcalóides pirrolizidínicos se dá a partir da ingestão contínua desses alcalóides. No entanto, essa resistência é perdida rapidamente quando os animais deixam de ingeri-los.

Os efeitos adaptativos dos xenobióticos são mediados por receptores de ligação presente nos hepatócitos. Após a ligação dos receptores com os xenobióticos, o complexo é translocado para o núcleo, ativando os genes de expressão do DNA responsáveis pela resposta adaptativa, que inclui a indução das enzimas da fase I e II, que podem resultar na detoxificação ou ativação do xenobiótico (Williams & Iatropoulos 2002). No metabolismo dos alcalóides pirrolizidínicos podem ocorrer diferentes reações, incluindo: 1) hidrólise por esterases teciduais, formando bases não tóxicas que são eliminadas pela urina; 2) N-oxidação, formando n-óxidos de menor toxicidade ou não tóxicos; 3) deidrogenação, que leva a formação de deidropirrolizidinas, responsáveis pela toxicidade aguda; 4) conjugação com alcalóides resultantes da deidrogenação, que se ligam a glutatona formando compostos solúveis em água, eliminados, posteriormente, pela bile e urina; e 5) N-dimetilação, nos alcalóides do grupo otonecina, formando deidropirrolizidinas (Cheeke 1994,1998). A resistência dos ovinos pode ser devida à detoxificação por hidrólise ou n-oxidação, na

fase I, ou a conjugação com a glutathiona, na fase II. Considerando que os xenobióticos são agentes indutores do processo de detoxificação, a rápida perda da resistência deve-se, aparentemente, aos efeitos adaptativos que são reversíveis depois do final da exposição ao xenobiótico (Williams & Iatropoulos 2002).

Considerando os resultados deste e de trabalhos anteriores (Anjos *et al.*, 2010, Riet-Correa *et al.*, 2011), para induzir resistência a intoxicação por *C. retusa* e utilizar ovinos no controle da planta os mesmos devem ser introduzidos diariamente, por períodos crescentes, nas pastagens infestadas. Tendo em vista a rápida perda da resistência à intoxicação, não é recomendado retirar os ovinos das pastagens por períodos maiores que 7 dias. Considerando que as sementes de *Crotalaria* spp. são muito mais tóxicas que as folhas (Culvenor & Smith 1957), e que em um experimento anterior um ovino ingeriu grande quantidade de partes aéreas da planta (285,6 kg em 270 dias) sem mostrar sinais clínicos (Nobre *et al.*, 2005), pode ser recomendado que os ovinos sejam introduzidos nas pastagens antes da sementação para que desenvolvam resistência.

CONCLUSÕES

Os resultados desse experimento demonstram que a resistência de ovinos a intoxicação por *C. retusa* é de curta duração, perdendo-se de 7 a 15 dias após o final da ingestão.

Agradecimentos. Trabalho financiado pelo INCT/CNPq (Proc. 573534/2008-0).

REFERÊNCIAS

- Anjos BL, Nobre VMT, Dantas AFM, Medeiros RMT, Neto TSO, Molyneux JR, Riet-Correa F. 2010. Poisoning of sheep by seeds of *Crotalaria retusa*: Acquired resistance by continuous administration of low doses. *Toxicon*. **55**:28-32.
- Basile JR, Diniz JMF, Okano W, Cirio SM & Leite LC. 2005. Intoxicação por *Senecio* spp. (Compositae) em bovinos no sul do Brasil. *Acta Scient. Vet.* **33**:57-62.
- Bandarra PM, Oliveira LG, Dalto AG, Boabaid FM, Juffo G, Riet-Correa F, Driemeier D & Cruz CEF. 2012. Sheep production as a *Senecio* spp. control tool. *Pesq. Vet. Bras.* **32**(10):1017-1022.

- Cheeke PR. 1994. A review of the functional and evolutionary roles of the liver in the detoxification of poisonous plants, with special reference to pyrrolizidine alkaloids. *Vet. Human Toxicol.* **36**:240-247.
- Cheeke PR. 1998. Natural toxicants in feeds, forages, and poisonous plants, second ed. Interstate, Danville, Illinois, 338–352.
- Colegate SM, Gardner DR, Davis TZ, Panter KE, Betz JM, 2012a. Dehydropyrrolizidine Alkaloids in Two Cryptantha Species: Including Two New Open Chain Diesters One of Which is Amphoteric. *Phytochem. Anal.* (wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/pca.2400.
- Colegate SM, Gardner DR, Joy RJ, Betz JM, Panter KE. 2012b. Dehydropyrrolizidine Alkaloids, Including Monoesters with an Unusual Esterifying Acid, from Cultivated *Crotalaria juncea* (Sunn Hemp cv. 'Tropic Sun') *J. Agric. Food Chem.* **60**:3541-3550.
- Culvenor CC, Smith LW. 1957. The alkaloids of *Crotalaria retusa*. *Aust. J. Chem.* 465-473.
- Gava A. & Barros C. S. L. 1997. *Senecio* spp. poisoning of horses in southern Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* **17**:36-40.
- Grecco FB, Silva PE, Marcolongo-Pereira C., Soares MP, Collares G & Shild A L. 2011. Seneciose crônica em ovinos no sul do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* **31**:326-330.
- Grecco FB, Silva PE, Marcolongo-Pereira C, Soares MP, Raffi MB & Shild A L. 2012. Intoxicação experimental aguda por *Senecio brasiliensis* em ovinos e indução de resistência a intoxicação. *Pesq. Vet. Bras.* **32** (9): 912-916.
- Ilha MR, 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 FSC, Soares MP, Haraguchi M, Riet-Correa F, Méndez MC & Jarenkow JÁ. 2004. Aspectos epidemiológicos da seneciose na região sul do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* **24** (4):191-198.
- Lucena RB, Rissi DR, Maia LA, Flores MM, Dantas AFM, Nobre VMT, Riet-Correa F & Barros CSL. 2010. Intoxicação por alcalóides pirrolizidínicos em ruminantes e equinos no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* **30** (5): 447-452.

- Mendez 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.
- Nobre VMT, Riet-Correa F, Barbosa Filho JM, Dantas AF, Tabosa IM & Vasconcelos, JS. 2004. Intoxicacao por *Crotalaria retusa* (Fabaceae) em Equideos no semi-arido da Paraiba. *Pesq. Vet. Bras.* **24** (3):132-143.
- Nobre VMT, Dantas AFM, Riet-Correa F, Barbosa Filho JM, Tabosa I M, Vasconcelos J J. 2005. Acute intoxication by *Crotalaria retusa* in sheep. *Toxicon.* **45**: 347-352.
- Pimentel L A, Oliveira DM, Galiza GJN, Rego RO, Dantas AFM & Riet-Correa F 2009. Doencas do sistema nervoso central de equideos no semi-arido. *Pesq. Vet. Bras.* **29**:589-597.
- Riet-Correa F & Méndez M C. 2007. Intoxicações por plantas e micotoxinas, p.99-221. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R. (ed) Doenças de Ruminantes e Eqüídeos. Vol. 2. 3ª ed. Pallotti, Santa Maria. 694p.
- Riet-Correa F, Carvalho K S, Dantas AFM, Medeiros RMT. 2011. Spontaneous acute poisoning by *Crotalaria retusa* in sheep and biological control of this plant with sheep. *Toxicon.* **58**:606-609.
- Soares MP, Riet-Correa F, Méndez MC, Rosa FG & Carreira EC. 2000. Controle biológico de *Senecio* spp. com pastoreio de ovinos. Anais II Reunión Argentina de Patologia Veterinária, Facultad de Ciências Veterinárias, Universidad Nacional Del Noroeste, Argentina.
- Thrall MA, Weiser G, Alisson R, Campbel TW. 2012. Veterinary and Clinical Chemistry. Second ed. Wiley-Blacwell. Oxford.
- Williams GM & Iatropoulos MJ. 2002. Alteration of liver cell function and proliferation: differentiation between adaptation an toxicity. *Toxicologic Pathology.* **30**(1): 41-53.

CONCLUSÕES

A intoxicação espontânea aguda por *C. retusa* em caprinos ocorre no semi-árido paraibano, apresentando quadro clínico e patológico agudo, com necrose centrolobular, semelhante ao observado em ovinos.

Ovinos e caprinos apresentam susceptibilidade semelhante à intoxicação por *C. retusa*.

A resistência de ovinos à intoxicação por *C. retusa* é de curta duração, perdendo-se de 7 a 15 dias após o final da ingestão.

Anexos