

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

JOÃO RICARDO CRUZ BRITO JUNIOR

Intoxicação experimental por *Tephrosia cinerea* em pequenos ruminantes. Intoxicação por Nitroxinila em caprinos

Patos/PB

2021

João Ricardo Cruz Brito Junior

Intoxicação experimental por *Tephrosia cinerea* em pequenos ruminantes. Intoxicação por Nitroxinila em caprinos

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Saúde Animal.

Orientador: Prof. Dr. Glauco José Nogueira de Galiza

Patos/PB

2021

B862i Brito Junior, João Ricardo Cruz.

Intoxicação experimental por *Tephrosia cinerea* em pequenos ruminantes. Intoxicação por nitroxinila em caprinos / João Ricardo Cruz Brito Junior. – Patos, 2021.

32 f. :il. color.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Saúde Animal) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2021.

"Orientação: Prof. Dr. Glauco José Nogueira de Galiza".

Referências.

1. Intoxicação Experimental. 2. *Tephrosia Cinerea*. 3. Ovinos. 4. Caprinos. 5. Plantas Tóxicas. 6. Plantas Hepatotóxicas. 7. Fibrose Hepática Centrolobular. 8. Anti-Helmíntico. 9. Sobredose. 10. Necrose Hepática Centrolobular. 11. Nefrose. I. Galiza, Glauco José Nogueira de. II. Título.

CDU 636.3(043)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
POS-GRADUACAO EM CIENCIA E SAUDE ANIMAL
Rua Aprígio Veloso, 882, - Bairro Universitário, Campina Grande/PB, CEP 58429-900

FOLHA DE ASSINATURA PARA TESES E DISSERTAÇÕES

JOÃO RICARDO CRUZ BRITO JUNIOR

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR TEPHROSIA CINEREA EM PEQUENOS RUMINANTES E INTOXICAÇÃO POR NITROXINILA EM CAPRINOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Saúde Animal.

Aprovada em: 26/02/2021

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Glauco José Nogueira de Galiza (Orientador - PPGCSA/UFCG)

Prof. Dr. Antônio Flávio Medeiros Dantas (Examinador Interno - UFCG)

Prof. Dr. Luciano da Anunciação Pimentel (Examinador Externo - UFRB)



Documento assinado eletronicamente por **GLAUCO JOSE NOGUEIRA DE GALIZA, PROFESSOR(A) DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 26/02/2021, às 11:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **ANTONIO FLAVIO MEDEIROS DANTAS, PROFESSOR(A) DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 26/02/2021, às 11:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luciano da Anunciação Pimentel, Usuário Externo**, em 26/02/2021, às 13:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufcg.edu.br/autenticidade>, informando o código verificador **1304474** e o código CRC **EEC14850**.

Dedicatória

Ao meu pai João Ricardo Cruz Brito e a minha mãe Ednalva Sacramento Santos Brito.

A fé na vitória tem que ser inabalável!

AGRADECIMENTOS

Agradecer primeiramente a Deus e ao Senhor Bom Jesus da Lapa, por me abençoar em todos os momentos da minha vida.

Ao meu pai João Ricardo Cruz Brito e a minha mãe Ednalva Sacramento Santos Brito, pelo amor, confiança e incentivo em todos os momentos da minha vida.

A minha avó Cassemira (Mirinha Favo de Mel), por todo amor e carinho em todos os momentos.

A todos os meus tios, minhas tias, primos e primas da Família Cruz Brito e Família Sacramento, pelo incentivo e apoio em todos os momentos.

Aos meus amigos da Veterinária - UFRB e aos amigos do Colégio (Grupo Se pá bate certo), pelo incentivo e irmandade desde 2003.

Aos meus amigos patológicos do Setor de Patologia Veterinária - UFRB, pela amizade, ensinamentos e incentivo.

Um agradecimento especial a Equipe Patos de Guega, meus grandes amigos Caio Pereira, José Eduardo e Indyara Cerqueira, pelos conselhos, incentivos, admiração e uma grande amizade fortalecida em 2018.

Um agradecimento especial ao meu orientador da graduação e amigo Professor Luciano da Anunciação Pimentel, pelos ensinamentos, confiança e amizade. Muito obrigado por tudo.

Ao Laboratório de Patologia Animal (LPA), pela receptividade, aprendizado e confiança, iniciado no ano de 2018, no meu estágio supervisionado. Sou muito grato por ter conhecido todos vocês e poder fazer parte dessa família patológica. MUITO OBRIGADO POR TUDO Rodrigo, Jefferson, Jussara, Millena, Yanca, Gian, Luana, Édipo, Ismael, Raquel, Platini, Artéfio, Flaviane, Jôvanna, Karol e a todos os estagiários por toda ajuda na rotina do LPA.

Aos funcionários Zé Nunca Mais, Zé Preto, Seu Cuité e Dona Nevinha, por toda colaboração, confiança e humildade. Muito obrigado!

Ao professor Antônio Flávio, pela oportunidade de poder realizar meu estágio supervisionado em 2018 no LPA e ter o prazer de conviver e aprender com todos os membros da família LPA. MUITO OBRIGADO pela receptividade, orientação, ensinamentos, incentivo e confiança. Máximo respeito pelo senhor.

Um agradecimento especial ao meu orientador, professor Glauco José Nogueira de Galiza, pela sua humildade, receptividade, ensinamentos, incentivo, confiança e amizade. Eu sou muito grato por conhecer, aprender e evoluir todos os dias com o senhor. MUITO OBRIGADO POR TUDO.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa.

A HUMILDADE É A ESSÊNCIA DA VIDA!

RESUMO

Esta Dissertação foi elaborada em dois capítulos, composta por dois artigos originais. O primeiro a ser submetido à revista Pesquisa Veterinária Brasileira, descreve um estudo experimental por *Tephrosia cinerea* em caprinos e ovinos para determinar a susceptibilidade, a dose tóxica, os principais achados clínicos e anatomopatológicos e comparar entre as espécies. A intoxicação foi reproduzida experimentalmente em um ovino que recebeu 10g/kg da planta moída e dois caprinos, o primeiro recebendo a dose de 5g/kg e o segundo recebendo 10g/kg da planta moída. O ovino apresentou distensão abdominal 34 dias após o início da ingestão da planta, evoluindo para decúbito esternal, dificuldade respiratória, opistótono, trismo mandibular, salivação e disfagia, vocalização e movimentos de pedalagem no 50º dia de experimento. Na necropsia observou acúmulo de líquido moderado na cavidade abdominal e fígado com superfície capsular irregular, discretamente esbranquiçada. Histologicamente no fígado as principais lesões observadas foram distensão sinusoidal acentuada, acompanhada de hemorragia acentuada, por vezes, formando pontes entre as regiões centrolobulares, associadas a dissociação dos cordões de hepatócitos. No sistema nervoso haviam discretos astrócitos de Alzheimer tipo II na substância cinzenta na região do córtex occipital. O caprino 2 apresentava apatia, sonolência, emagrecimento e no 62º dia, decúbito lateral, evoluindo para decúbito esternal, com rotação do pescoço em direção ao flanco. Na necropsia foi observado na região submandibular acentuado edema, na cavidade abdominal foi observado discreto acúmulo líquido, discretamente amarelado. No fígado havia discretas áreas enegrecidas na superfície capsular. Histologicamente o fígado apresentava discreta fibrose centrolobular associada a discreta dissociação dos cordões de hepatócitos e discreta degeneração vacuolar do citoplasma dos hepatócitos. O caprino 1 não apresentou sinais clínicos e na necropsia observou-se no fígado áreas discretas multifocais deprimidas na superfície capsular. Histologicamente havia degeneração vacuolar intracitoplasmática difusa de hepatócitos. O quadro clínico e os achados anatomopatológicos divergem entre as espécies, comprovando a maior susceptibilidade dos ovinos em consumir *Tephrosia cinerea*, quando comparado aos caprinos, existindo diferenças na patogenia e nos aspectos epidemiológicos da intoxicação. O segundo artigo, foi submetido à revista Pesquisa Veterinária Brasileira, descreve os aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos da intoxicação espontânea e experimental por nitroxinil 34% em caprinos. O surto ocorreu em uma propriedade no município de Prata, Estado da Paraíba. Foi administrado nitroxinil 34% em um rebanho de 120 caprinos, dos quais 18 animais apresentaram anorexia, vocalização, distensão abdominal, fraqueza, andar cambaleante e quedas. Na necropsia de três animais observou-se o predomínio de lesão hepática aguda. Histologicamente no fígado as lesões caracterizavam-se por necrose centrolobular associada a hemorragia e degeneração de hepatócitos. Nos rins observou-se nefrose tubular com formações de cilindros granulados. Nos pulmões observaram-se áreas multifocais a coalescentes de moderado edema interalveolar e congestão vascular. Foi realizada a reprodução experimental dois caprinos com o mesmo medicamento e doses semelhantes as administradas na propriedade. Os sinais clínicos e as alterações macro e microscópicas foram semelhantes aos caprinos da intoxicação espontânea. O diagnóstico de intoxicação por nitroxinil 34% foi realizado com base nos dados epidemiológicos, clínicos e patológicos e confirmados pela reprodução experimental. A administração de nitroxinil 34% em doses elevadas, associada a alta temperatura ambiental e exercícios físicos, pode ocasionar a intoxicação com alta letalidade em caprinos.

PALAVRAS-CHAVE: Intoxicação experimental; *Tephrosia cinerea*; ovinos; caprinos; plantas tóxicas; plantas hepatotóxicas; fibrose hepática centrolobular; anti-helmíntico; sobredose; necrose hepática centrolobular; nefrose.

ABSTRACT

This Dissertation was developed in two chapters, consisting of two original articles. The first to be submitted to the Brazilian Veterinary Research magazine, describes an experimental study by *Tephrosia cinerea* in goats and sheep to determine susceptibility, toxic dose, the main clinical and anatomopathological findings and to compare between species. Intoxication was reproduced experimentally in one sheep that received 10g /kg of the ground plant and two goats, the first receiving a dose of 5g / kg and the second receiving 10g / kg of the ground plant. The sheep presented abdominal distension 34 days after the beginning of the ingestion of the plant, evolving to sternal decubitus, breathing difficulty, opisthotonos, mandibular trismus, salivation and dysphagia, vocalization and pedaling movements on the 50th day of the experiment. At necropsy, he observed moderate fluid accumulation in the abdominal cavity and liver with an irregular capsular surface, slightly whitish. Histologically in the liver, the main lesions observed were marked sinusoidal distension, accompanied by marked hemorrhage, sometimes forming bridges between the centrilobular regions, associated with dissociation of hepatocyte cords. In the nervous system there were discrete Alzheimer's type II astrocytes in the gray matter in the region of the occipital cortex. Goat 2 showed apathy, drowsiness, weight loss and on the 62nd day, lateral decubitus, evolving to sternal decubitus, with rotation of the neck towards the flank. At necropsy, a marked edema was observed on the face and dewlap, a slight accumulation of liquid, slightly yellowish, was observed in the abdominal cavity. In the liver there were discrete blackened areas on the capsular surface. Histologically, the liver showed mild centrilobular fibrosis associated with mild dissociation of hepatocyte cords and mild vacuolar degeneration of the hepatocyte cytoplasm. Goat 1 showed no clinical signs and at necropsy discrete multifocal areas were observed in the liver on the capsular surface. Histologically there was diffuse intracytoplasmic vacuolar degeneration of hepatocytes. The clinical picture and anatomopathological findings differ between species, proving the greater susceptibility of sheep to consume *Tephrosia cinerea*, when compared to goats, with differences in pathogenesis and in the epidemiological aspects of intoxication. The second article, was submitted to the Brazilian Veterinary Research magazine, describes the epidemiological, clinical, and pathological aspects of spontaneous and experimental nitroxinil poisoning 34% in goats. The outbreak occurred on a property in the municipality of Prata, Paraíba State. Nitroxinil 34% was administered to a herd of 120 goats, of which 18 animals presented anorexia, vocalization, bloating, weakness, staggering, and falls. At necropsy of three animals, a predominance of acute liver injury was observed. Histologically in the liver, the lesions were characterized by centrilobular necrosis associated with hemorrhage and degeneration of hepatocytes. In the kidneys, tubular nephrosis with granular cylinder formations was observed. In the lungs, multifocal to coalescent areas of moderate interalveolar edema and vascular congestion were observed. Experimental reproduction was carried out in two goats with the same medication and doses similar to those administered on the farm. Clinical signs and macro and microscopic changes were similar to goats from spontaneous intoxication. The diagnosis of nitroxinil poisoning 34% was made based on epidemiological, clinical, and pathological data and confirmed by experimental reproduction. The administration of nitroxinil 34% in high doses, associated with high ambient temperature and physical exercises, can cause intoxication with high lethality in goats.

KEYWORDS: Experimental intoxication, *Tephrosia cinerea*; sheep; goats; toxic plants; hepatotoxic plants; centrilobular liver fibrosis; anthelmintic; overdose; centrilobular liver necrosis; nephrosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Páginas

- CAPÍTULO 1 - Determinação da susceptibilidade da intoxicação por *Tephrosia cinerea* em caprinos**
- FIGURA 1-** Ovino 1 intoxicado experimentalmente por *Tephrosia cinerea*. (A) Animal apresentando distensão abdominal e apatia. (B) Cavidade abdominal com presença de líquido livre discretamente amarelado. Destaque: shunts portossistêmicos entre as veias mesentéricas. (C) Fígado com superfície capsular irregular, por vezes, deprimida por estriações irregulares, com cápsula discretamente esbranquiçada. (D) Fígado, superfície de corte com áreas esbranquiçadas principalmente ao redor de vasos. 17
- FIGURA 2 -** Ovino 1 intoxicado experimentalmente por *Tephrosia cinerea*. (A) Fígado com fibrose moderada na região centrolobular associada a hemorragia. HE, obj.10x. (B) Fígado com região centrolobular apresentando distensão sinusoidal acentuada, acompanhada de hemorragia acentuada, por vezes, formando pontes entre as regiões centrolobulares, associadas a dissociação dos cordões de hepatócitos. HE, obj.40x. (C) Fígado com fibrose centrolobular moderada. Tricrômico de Masson, obj.10x. (D) Substância cinzenta do córtex occipital, evidenciando discretos astrócitos de Alzheimer tipo II (seta). HE, obj.40x..... 18
- FIGURA 3 -** Caprino 2 intoxicado experimentalmente por *Tephrosia cinerea*. (A) Animal em decúbito esternal, rotacionando a pescoço em direção ao flanco. (B) Cavidade abdominal com presença de material gelatinoso e translúcido ao redor das vísceras e no mesentério. (C) Fígado com discretas áreas enegrecidas na superfície capsular. (D) Fígado, superfície de corte, com áreas puntiformes avermelhadas distribuídas por todo parênquima..... 19
- FIGURA 4 -** Caprinos 1 e 2 intoxicados experimentalmente por *Tephrosia cinerea*. (A) Fígado do Caprino 2, com discreta fibrose na região centrolobular. HE, obj.10x. (B) Fígado com fibrose centrolobular discreta. Tricrômico de Masson, obj.40x. (C) Fígado do Caprino 1, com degeneração vacuolar intracitoplasmática difusa de hepatócitos. HE, obj.10x. (D) Fígado com fibrose centrolobular discreta. Tricrômico de Masson, obj.40x..... 20
- CAPÍTULO 2 - Intoxicação espontânea e experimental por Nitroxinil 34% em caprinos**
- FIGURA 1 -** Intoxicação por Nitroxinil 34% em caprinos. (A) Fígado com acentuação do padrão lobular. (B) Superfície de corte do fígado com áreas multifocais vermelho enegrecidas intercaladas com áreas claras no parênquima..... 266
- FIGURA 2 -** Intoxicação por Nitroxinil 34% em caprinos. (A) Fígado, áreas multifocais de necrose e hemorragia são vistas na região centrolobular. HE, obj. 10x. (B) Fígado observam-se áreas de necrose e hemorragia centrolobular circundadas por hepatócitos com citoplasma vacuolizados. HE, obj. 20x. (C) Rim, com degeneração e necrose do epitélio tubular, caracterizado por hipereosinofilia do citoplasma e picnose e cariorrexe dos núcleos. HE, obj.

20x. (D) Fígado, animal experimental, com necrose e hemorragia centrolobular, HE, obj. 20x. (E) Rim, animal experimental, com degeneração epitelial e necrose (seta), associada a regeneração tubular (ponta de seta) na região cortical. HE, obj. 40x. (F) Rim, animal experimental, com marcada regeneração tubular (seta) na região medular. HE, obj. 40x.ical. HE, obj. 40x. 277

SUMÁRIO

	Páginas
INTRODUÇÃO GERAL.....	11
CAPITULO I - Determinação da susceptibilidade da intoxicação por <i>Tephrosia cinerea</i> em caprinos.	15
INTRODUÇÃO.....	16
MATERIAL E MÉTODOS.....	16
RESULTADOS.....	17
DISCUSSÃO.....	20
CONCLUSÃO	21
REFERÊNCIAS.....	21
CAPITULO II - Intoxicação espontânea e experimental por Nitroxinil 34% em caprinos.	24
INTRODUÇÃO.....	24
MATERIAL E MÉTODOS.....	25
RESULTADOS.....	25
DISCUSSÃO.....	28
CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS.....	29
CONCLUSÃO GERAL	32

INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil a maior parte da criação de animais de produção é feita de forma extensiva ou semiextensiva, em pastagens nativas ou cultivadas. Esse fator leva ao maior acesso dos animais as plantas tóxicas, causando um impacto negativo na pecuária e perdas econômicas. (PESSOA et al., 2013). A problemática da seca resulta em escassez de forragens e algumas plantas nativas que possuem resistência e potenciais tóxicos se tornam a única fonte de alimentos para pequenos ruminantes em criação extensiva. O tipo da planta tóxica ingerida e a quantidade podem afetar diretamente a sanidade desses animais, comprometendo o sistema respiratório, o sistema gastrointestinal, o sistema nervoso, o sistema cardiovascular, fígado, sangue e os rins, ou até mesmo resultar em morte (TOKARNIA et al., 2012).

São reconhecidas mais de 130 plantas tóxicas que afetam diretamente a sanidade dos animais (TOKARNIA et al., 2012). Têm grande importância algumas espécies de plantas que causam alterações hepáticas como fibrose, necrose e fotossensibilização secundária, em animais de produção (SANTOS et al., 2008). No semiárido nordestino as plantas hepatotóxicas de grande relevância na intoxicação espontânea de pequenos ruminantes são as espécies *Crotalaria retusa*, *Tephrosia cinerea*, *Panicum dichotomiflorum*, as espécies do gênero *Urochloa* spp. (*Brachiaria* spp.) (ASSIS et al., 2010) e a espécie *Chamaecrista serpens* (L.) Greene (MENDONÇA et al., 2021).

Outra circunstância importante que resulta em perdas significativas nos rebanhos de caprinos e ovinos, é a prática de manejo sanitário inadequada, resultando no aparecimento de diversas enfermidades, com grande importância para os parasitas que acometem o sistema digestório, que ocasiona elevada morbidade e mortalidade (ALENCAR et al., 2010; SILVA, 2014). Para solucionar o problema e reduzir as perdas no rebanho, é realizada a utilização de antiparasitários de forma inapropriada, levando ao surgimento da resistência anti-helmíntica. O uso indiscriminado de vermífugos em doses elevadas, com o objetivo de evitar a resistência anti-helmíntica resulta em quadros de intoxicação caracterizados por alterações neurológicas, respiratórias e malformações fetais (SPRENGER et al., 2013; JOURDAN et al., 2015). Alguns medicamentos para a espécie caprina têm potencial de ação específico para determinado agente parasitário, sendo divididos em benzimidazóis, imidotiazóis, organofosforados, avermectinas, salicilanilidas e substitutos fenólicos (CHAGAS et al., 2013). A nitroxinila (4-hidroxi-3-iodo-5-nitrobenzonitrila) se destaca como substitutos fenólicos, principalmente para o controle do gênero *Fasciola* (ALMEIDA et al., 2017).

Diversos casos de intoxicação por plantas hepatotóxicas em pequenos ruminantes têm sido registrados no Laboratório de Patologia Animal da Universidade Federal de Campina Grande (LPA/UFCG), entretanto é fundamental identificar e caracterizar os principais aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos que auxiliam no diagnóstico das diferentes plantas

hepatotóxicas para pequenos ruminantes. A intoxicação por *Tephrosia cinerea* é frequentemente relatada em ovinos, no entanto não há relatos da ocorrência em caprinos, demonstrando a necessidade de estudo experimental para avaliar a susceptibilidade desta espécie a intoxicação. Não são descritas intoxicações em caprinos por nitroxinil na literatura, desta forma o segundo capítulo tem o objetivo de descrever os aspectos epidemiológicos, clínicos e anatomopatológicos de um surto de intoxicação espontânea por nitroxinil a 34% e a reprodução experimental em caprinos.

Esta dissertação é constituída por dois trabalhos. O primeiro referente a determinação da susceptibilidade da intoxicação por *Tephrosia cinerea* em caprinos. O segundo referente a intoxicação espontânea e experimental por nitroxinil 34% em caprinos.

REFERÊNCIAS

- ALENCAR, S. P.; MOTA, R. A.; COELHO, M. C. O. C.; NASCIMENTO, S. A.; DE OLIVEIRA ABREU, S. R.; CASTRO, R. S. Perfil sanitário dos rebanhos caprinos e ovinos no sertão de Pernambuco. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 131-140. 2010.
- ALMEIDA, M. A. O.; AYRES M. C. C.; SANTARÉM V. A.; LAMBERT S. M. Agentes antinematódeos. IN: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 6 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan LTDA, 510 cap. 44, p. 860-878, 2017.
- ASSIS, T.S.; MEDEIROS, R.M.T.; RIET-CORREA, F.; GALIZA, G.J.N.; DANTAS, A.F.M.; OLIVEIRA, M.D. Intoxicações por plantas diagnosticadas em ruminantes e equinos e estimativa das perdas econômicas na Paraíba. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 30, n. 1, p. 13-20, 2010.
- CHAGAS, A.C.S.; DOMINGUES, L.F.; GAÍNZA, Y.A. Cartilha de vermifugação de ovinos e caprinos. **Embrapa Pecuária Sudeste**, 1ª ed., São Carlos, p.1-10. 2013.
- JOURDAN, G.J. Intravenous lipid emulsion therapy in 20 cats accidentally overdosed with ivermectin. **J. Vet. Emerg. Crit. Care**. v.25, n.5, p. 667–671, 2015.
- MENDONÇA, M.F.F.; PIMENTEL, L.A.; LEAL, P.V.; OLIVEIRA FILHO, J.C.; CAYMMI, L.G.; SILVA, A.W.O.; JESUS, R.S.; PEIXOTO, T.C. Hepatogenous photosensitization in ruminants and horses caused by the ingestion of *Chamaecrista serpens* in Brazil, **Toxicon**, v. 93, p. 13-20, 2021.
- PESSOA, C.R.M.; MEDEIROS, R.M.T.; RIET-CORREA, F. Importância econômica, epidemiologia e controle das intoxicações por plantas no Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 6, p. 752-758, 2013.
- SANTOS, J.C.A.; RIET-CORREA, F.; SIMÕES, S.V.D.; BARROS, C.S.L. Patogênese, sinais clínicos e patologia das doenças causadas por plantas hepatotóxicas em ruminantes e equinos no Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 1, p. 1-14, 2008.
- SILVA, C.M.B.A. Enfermidades de pequenos ruminantes e avaliação do manejo de rebanho caprino e ovino na microrregião do brejo paraibano. 2014. 70 f. **Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)** – Universidade Federal da Paraíba, Patos 2014.
- SPRENGER, L.K.; AMARAL, C. H.; LEITE FILHO, R. V.; AGUIAR, T. N.; MOLENTO, M. B. Eficácia do fosfato de levamisol em nematódeos gastrintestinais de caprinos e ovinos. **Archives of Veterinary Science**, Recife. v.18, n.1, p.29-39, 2013.
- TOKARNIA, C.H.; BRITO, M.F.; BARBOSA, J.D.; PEIXOTO, P.V.; DÖBEREINER, J. 2012. (ed.) Plantas tóxicas do Brasil. **Editora Helianthus**, 2ª ed., Rio de Janeiro, p.586.

CAPITULO I

Determinação da susceptibilidade da intoxicação por *Tephrosia cinerea* em caprinos

Trabalho a ser submetido à revista Pesquisa Veterinária Brasileira

(Qualis A4)

Determinação da susceptibilidade da intoxicação por *Tephrosia cinerea* em caprinos

João R. C. B. Junior^{2*}, Yanca G. S. Soares³, Maria Jussara R. Nascimento², Jefferson S. Ferreira², Rodrigo C. Alves², Antônio F. M. Dantas⁴, Franklin Riet-Correa⁵ e Glauco J. N. Galiza⁴

²Discente do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Av. Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB 58708-110, Brasil. *Autor para correspondência: joaoricardo055@hotmail.com

³Programa de Pós-Graduação *Lato Sensu*, modalidade Residência em Área Profissional da Saúde, em Medicina Veterinária, CSTR-UFCG, Avenida Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB 58708-110, Brasil.

⁴Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, CSTR-UFCG, Avenida Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB 58708-110, Brasil.

⁵Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal nos Trópicos (PPGCAT), Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Av. Adhemar de Barros, 500, Ondina, Salvador, BA 40170-110, Brasil.

ABSTRACT. - Brito Junior J.R.C., Soares Y.G.S., Nascimento M.J.R., Ferreira J.S., Alves R.C., Dantas A.F.M., Riet-Correa F. & Galiza G.J.N. 2021. **Determination of the susceptibility of intoxication by *Tephrosia cinerea* in goats.** *Pesquisa Veterinária Brasileira* 36(Supl.):00-00. Laboratório de Patologia Animal, Hospital Veterinário, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Avenida Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB 58708-110, Brasil. E-mail: joaoricardo055@hotmail.com

Spontaneous and experimental intoxication by *Tephrosia cinerea* in the Northeastern semiarid region, is only described in sheep, causing a pathological clinical picture of ascites and centrilobular liver fibrosis, requiring an experimental study in goats. The objective of this work was to carry out experimental poisoning by *T. cinerea* in goats and sheep to determine susceptibility, toxic dose, the main clinical and anatomopathological findings and to compare between species. Intoxication was reproduced experimentally in one sheep that received 10g / kg of the ground plant and two goats, the first receiving a dose of 5g / kg and the second receiving 10g / kg of the ground plant. The sheep presented abdominal distension 34 days after the beginning of the ingestion of the plant, evolving to sternal decubitus, breathing difficulty, opisthotonos, mandibular trismus, salivation and dysphagia, vocalization and pedaling movements on the 50th day of the experiment. At necropsy, he observed moderate fluid accumulation in the abdominal cavity and liver with an irregular capsular surface, slightly whitish. Histologically in the liver, the main lesions observed were marked sinusoidal distension, accompanied by marked hemorrhage, sometimes forming bridges between the centrilobular regions, associated with dissociation of hepatocyte cords. In the nervous system there were discrete Alzheimer's type II astrocytes in the gray matter in the region of the occipital cortex. Goat 2 showed apathy, drowsiness, weight loss and on the 62nd day, lateral decubitus, evolving to sternal decubitus, with rotation of the neck towards the flank. At necropsy, a marked edema was observed on the face and dewlap, a slight accumulation of liquid, slightly yellowish, was observed in the abdominal cavity. In the liver there were discrete blackened areas on the capsular surface. Histologically, the liver showed mild centrilobular fibrosis associated with mild dissociation of hepatocyte cords and mild vacuolar degeneration of the hepatocyte cytoplasm. Goat 1 showed no clinical signs and at necropsy discrete multifocal areas were observed in the liver on the capsular surface. Histologically there was diffuse intracytoplasmic vacuolar degeneration of hepatocytes. The clinical picture and anatomopathological findings differ between species, proving the greater susceptibility of sheep to consume *Tephrosia cinerea*, when compared to goats, with differences in pathogenesis and in the epidemiological aspects of intoxication.

INDEX TERMS: Experimental intoxication, *Tephrosia cinerea*, sheep, goats, toxic plants, hepatotoxicplants, centrilobular fibrosis.

RESUMO. - A intoxicação espontânea e experimental por *Tephrosia cinerea* no semiárido Nordeste, somente é descrita em ovinos, causando quadro clínico patológico de ascite e fibrose hepática centrolobular, sendo necessário estudo experimental em caprinos. O objetivo deste trabalho foi realizar a intoxicação experimental por *T. cinerea* em caprinos e ovinos para determinar a susceptibilidade, a dose tóxica, os principais achados clínicos e anatomopatológicos e comparar entre as espécies. A intoxicação foi reproduzida experimentalmente em um ovino que recebeu 10g/kg da planta moída e dois caprinos, o primeiro recebendo a dose de 5g/kg e o segundo recebendo 10g/kg da planta moída. O ovino apresentou distensão abdominal 34 dias após o início da ingestão da planta, evoluindo para decúbito esternal, dificuldade respiratória, opistótono, trismo mandibular, salivação e disfagia, vocalização e movimentos de pedalagem no 50º dia de experimento. Macroscopicamente observou-se acúmulo de líquido na cavidade abdominal e fígado com superfície capsular irregular, discretamente esbranquiçada. Histologicamente no fígado as principais lesões observadas foram distensão sinusoidal acentuada, acompanhada de hemorragia acentuada, por vezes, formando pontes entre as regiões centrolobulares, associadas a dissociação dos cordões de hepatócitos. No sistema nervoso haviam discretos astrócitos de Alzheimer tipo II na substância

cinzenta na região do córtex occipital. O caprino 2 apresentava apatia, sonolência, emagrecimento e no 62º dia, decúbito lateral, evoluindo para decúbito esternal, com rotação do pescoço em direção ao flanco. Na necropsia foi observado na região submandibular acentuado edema e na cavidade abdominal havia discreto acúmulo de líquido, levemente amarelado. No fígado observavam-se áreas discretas enegrecidas na superfície capsular. Histologicamente o fígado apresentava discreta fibrose centrolobular associada a discreta dissociação dos cordões de hepatócitos e discreta degeneração vacuolar do citoplasma dos hepatócitos. O caprino 1 não apresentou sinais clínicos e na necropsia observou-se no fígado, áreas discretas multifocais deprimidas na superfície capsular. Histologicamente havia degeneração vacuolar intracitoplasmática difusa de hepatócitos. O quadro clínico e os achados anatomopatológicos divergem entre as espécies, comprovando a maior susceptibilidade dos ovinos em consumir *Tephrosia cinerea*, quando comparado aos caprinos, existindo diferenças na patogenia e nos aspectos epidemiológicos da intoxicação.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Intoxicação experimental, *Tephrosia cinerea*, ovinos, caprinos, plantas tóxicas, plantas hepatotóxicas, fibrose centrolobular.

INTRODUÇÃO

São reconhecidas no Brasil mais de 130 plantas tóxicas que afetam diretamente a sanidade dos animais (Tokarnia et al. 2012). Têm grande importância algumas espécies de plantas que causam alterações hepáticas como fibrose, necrose e fotossensibilização secundária, em animais de produção (Santos et al. 2008). No semiárido nordestino as plantas hepatotóxicas de grande relevância na intoxicação espontânea de pequenos ruminantes são as espécies *Crotalaria retusa*, *Tephrosia cinerea*, *Panicum dichotomiflorum*, as espécies do gênero *Urochloa* spp. (*Brachiaria* spp.) (Assis et al. 2010) e a espécie *Chamaecrista serpens* (L.) Greene (Mendonça et al. 2021).

Tephrosia cinerea é descrita como um arbusto ou subarbustos, que pertence à família *Fabaceae* Lindl. (Queiroz & Tozzi 2015), conhecida popularmente como “falso anil”. É uma planta invasora bastante difundida no semiárido, possuindo resistência à seca e afetando principalmente os ovinos causando uma doença conhecida como “barriga d’água” (Santos et al. 2007).

A intoxicação por *T. cinerea* resulta em sinais clínicos de distensão abdominal (ascite), perda de peso, depressão, dispneia e intolerância ao exercício, que podem aparecer semanas ou meses antes da morte dos animais (Santos et al. 2007, Riet-Correa et al. 2013, Silveira et al. 2018, Câmara et al. 2019). Na necropsia as lesões encontradas nos animais afetados são observadas no fígado, que apresenta superfície irregular e consistência dura, ascite, hidrotórax e hidropericárdio. Nos achados histopatológicos é observado no fígado, fibrose periacinar associada a hemorragia e em alguns casos no sistema nervoso central observa-se vacuolização da substância branca e presença de astrócitos de Alzheimer tipo II, caracterizando a encefalopatia hepática (Santos et al. 2007, Riet-Correa et al. 2013, Silveira et al. 2018, Câmara et al. 2019). O princípio tóxico da planta ainda é desconhecido, e em estudo realizado com amostras de folhas e sementes de *T. cinerea* foi negativo para a presença de alcaloides pirrolizidínicos (Santos et al. 2007).

Estudos descrevem intoxicação espontânea e experimental por *T. cinerea* somente em ovinos (Santos et al. 2007, Riet-Correa et al. 2013, Silveira et al. 2018, Câmara et al. 2019), sendo necessário estudo experimental em caprinos, que descreva os sinais clínicos e achados anatomopatológicos (Neto et al. 2013).

O objetivo deste trabalho é realizar a intoxicação experimental por *T. cinerea* em caprinos para determinar a susceptibilidade, a dose tóxica e os principais achados clínicos e anatomopatológicos em caprinos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo experimental de intoxicação por *T. cinerea* em caprinos e ovinos no Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário Universitário Prof. Dr. Ivon Mácedo Tabosa do Centro de Saúde e Tecnologia Rural, da Universidade Federal de Campina Grande (LPA/HVU/UFCG), Campus de Patos, PB. A planta foi colhida em duas propriedades, uma no município de Patos, Paraíba em julho de 2019, e a outra no município de Jucurutu, Rio Grande do Norte em outubro de 2019. Em ambas haviam ocorrido surtos de intoxicação por *T. cinerea* em ovinos. Após a coleta, a planta foi secada à sombra por um período de sete dias, triturada, moída e armazenada em sacos plásticos à temperatura ambiente. Foram selecionados três caprinos Moxotó e dois ovinos Mestiço (Santa Inês), machos, com seis meses de idade, provenientes da Fazenda Experimental do Jatobá - Nupeárido - (Núcleo de Pesquisa para o Desenvolvimento do Trópico Semiárido - UFCG - Patos, PB), criados em áreas livres de *T. cinerea*. Todos os animais foram alojados em baias individuais, vermifugados e passaram por dez dias de adaptação, recebendo concentrado (farelo de milho e trigo) a 1% do peso vivo, feno de capim tifton (*Cynodon dactylon*) *ad libitum* e água à vontade.

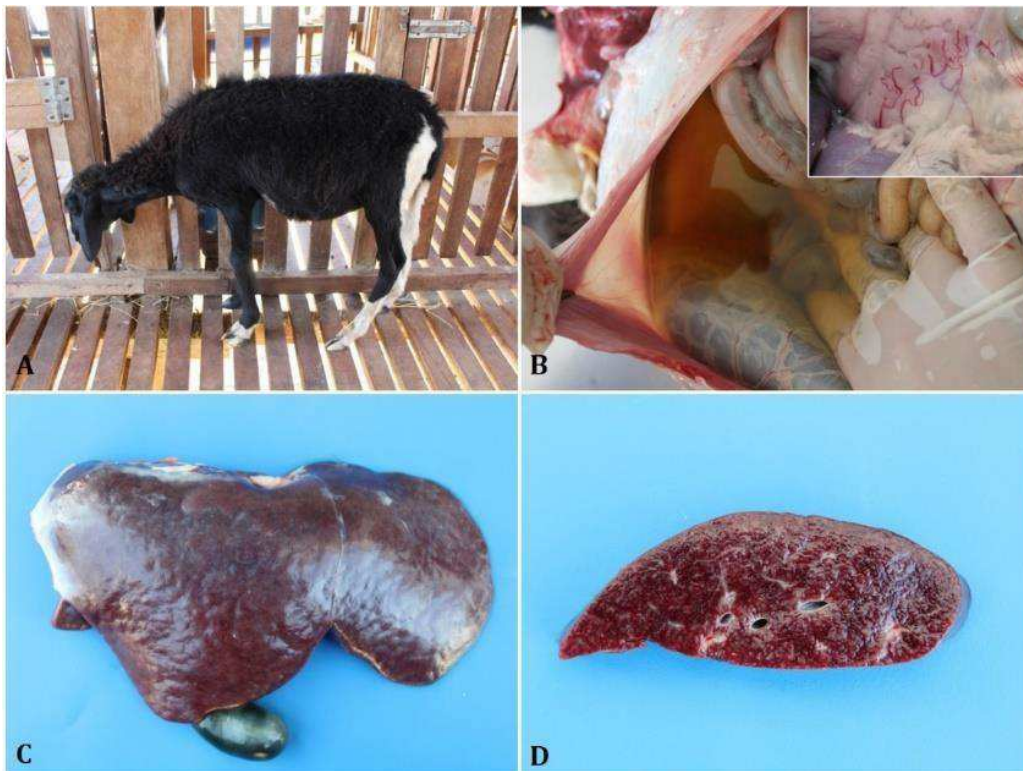
O experimento foi iniciado no dia 26 de setembro de 2020, com Caprino 1 pesando 13,400kgs, consumindo 5g/kg da planta moída; o Caprino 2 pesando 11,600kgs, consumindo 10g/kg da planta moída e o Ovino 1 pesando 12,600kgs, consumindo 10g/kg da planta moída. Os animais receberam concentrado a 1% do peso vivo, adicionado a planta, feno de capim tifton (*Cynodon dactylon*) *ad libitum* e água à vontade. O Caprino 3 pesando 11,800kgs e o Ovino 2 pesando 12,200kgs, foram utilizados como controle, consumindo somente concentrado a 1% do peso vivo, feno de capim tifton (*Cynodon dactylon*) *ad libitum* e água à vontade.

O Ovíno 1 foi submetido a eutanásia no 50º dia após o início do experimento, o Capríno 2 foi necropsiado após morte natural no 62º dia após o início do experimento e o Capríno 1 foi submetido a eutanásia no 112º dia após o início do experimento. Os animais controles, Capríno 3 e o Ovíno 2, foram submetidos a eutanásia no 118º dia após o início do experimento. Foram coletados fragmentos de fígado, pré-estômagos, abomaso, intestinos, rim, adrenal, linfonodos, pulmão, coração e o sistema nervoso central, fixados em formol a 10% tamponado e realizada a confecção de lâminas histológicas, coradas por Hematoxilina e Eosina (HE). Fragmentos de fígado de todos os animais intoxicados foram coradas pelo Tricrômico de Masson para evidenciar o tecido conjuntivo fibroso. Este projeto encontra-se registrado no Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Número do processo (CEP 69-2013).

RESULTADOS

O Ovíno 1 totalizou 50 dias de experimento. Durante 34 dias consumiu 7,682kgs da mistura no cocho (10g/kg de planta moída + concentrado a 1% do peso vivo), sendo que 4,594kgs correspondiam apenas a planta moída. No 35º dia o animal reduziu o consumo da mistura e durante 11 dias consumiu apenas 675g de um total de 2,885kgs. No 46º dia foi realizada a administração induzida da planta por via oral, durante quatro dias, com consumo total de 700g da planta. Após 34 dias do início da ingestão da planta o animal apresentava distensão abdominal com teste piparote positivo (Fig.1A). No 50º dia de experimento, o animal foi encontrado na baia em decúbito esternal, com ausência de resposta a estímulos externos, dificuldade respiratória, opistótono, trismo mandibular, salivação e disfagia, vocalização e movimentos de pedalagem, O animal foi submetido a eutanásia. O Ovíno 1 perdeu 3,200kgs de peso em 50 dias de experimento.

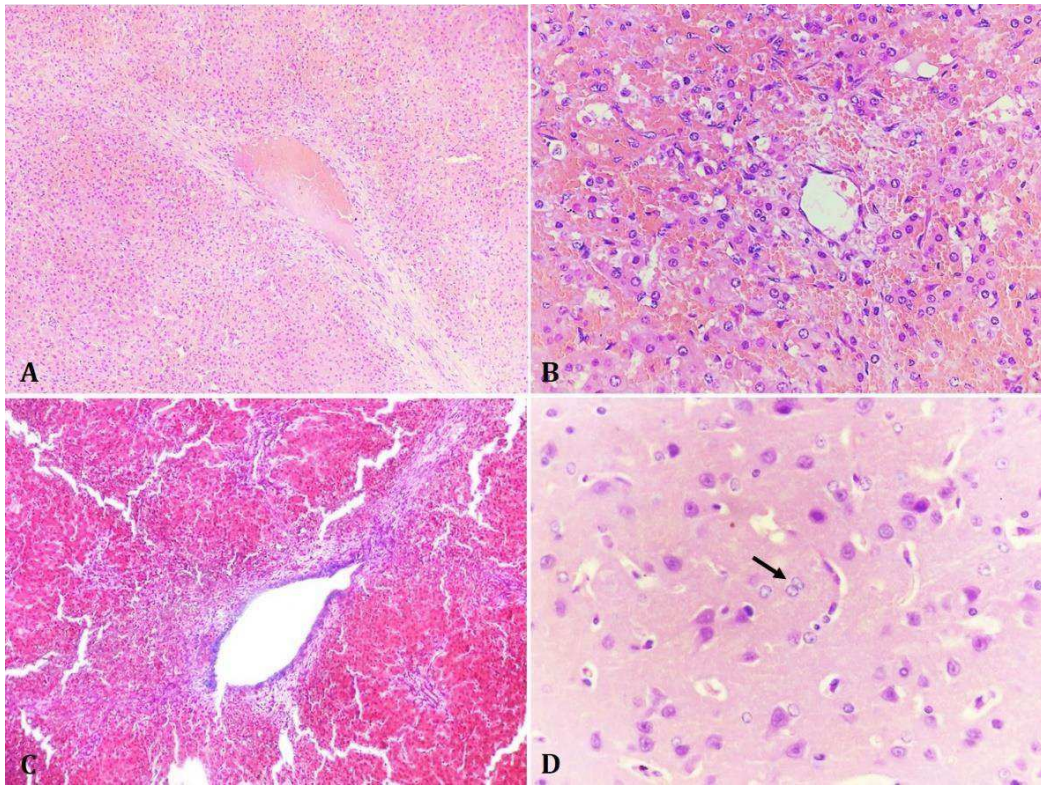
Na necropsia observou-se aproximadamente 1,800ml de líquido discretamente amarelado, por vezes, gelatinoso e que coagulava com facilidade na cavidade abdominal (Fig.1B). Foram observados shunts portossistêmicos entre as veias mesentéricas (Fig.1B). O fígado apresentava-se com superfície capsular irregular, por vezes, deprimida por estriações e irregulares, com cápsula discretamente esbranquiçada e material fibrilar aderido entre os lobos hepáticos (Fig.1C). Ao corte, apresentava-se firme com áreas esbranquiçadas principalmente ao redor de vasos (Fig.1D). No saco pericárdico observou-se 6ml de líquido translúcido.



1Fig.1. Ovíno 1 intoxicado experimentalmente por *Tephrosia cinerea*. (A) Animal apresentando distensão abdominal e apatia. (B) Cavidade abdominal com presença de líquido livre discretamente amarelado. Destaque: shunts portossistêmicos entre as veias mesentéricas. (C) Fígado com superfície capsular irregular, por vezes, deprimida por estriações irregulares, com cápsula discretamente esbranquiçada. (D) Fígado, superfície de corte com áreas esbranquiçadas principalmente ao redor de vasos.

Microscopicamente no fígado do Ovíno 1 foi observado na superfície externa, espessamento capsular moderado e difuso que se projetava no parênquima. Havia fibrose moderada na região centrolobular associada a hemorragia que variou de moderada a acentuada (Fig.2A). Na região centrolobular havia distensão sinusoidal acentuada, acompanhada de hemorragia acentuada, por vezes, formando pontes entre as regiões centrolobulares,

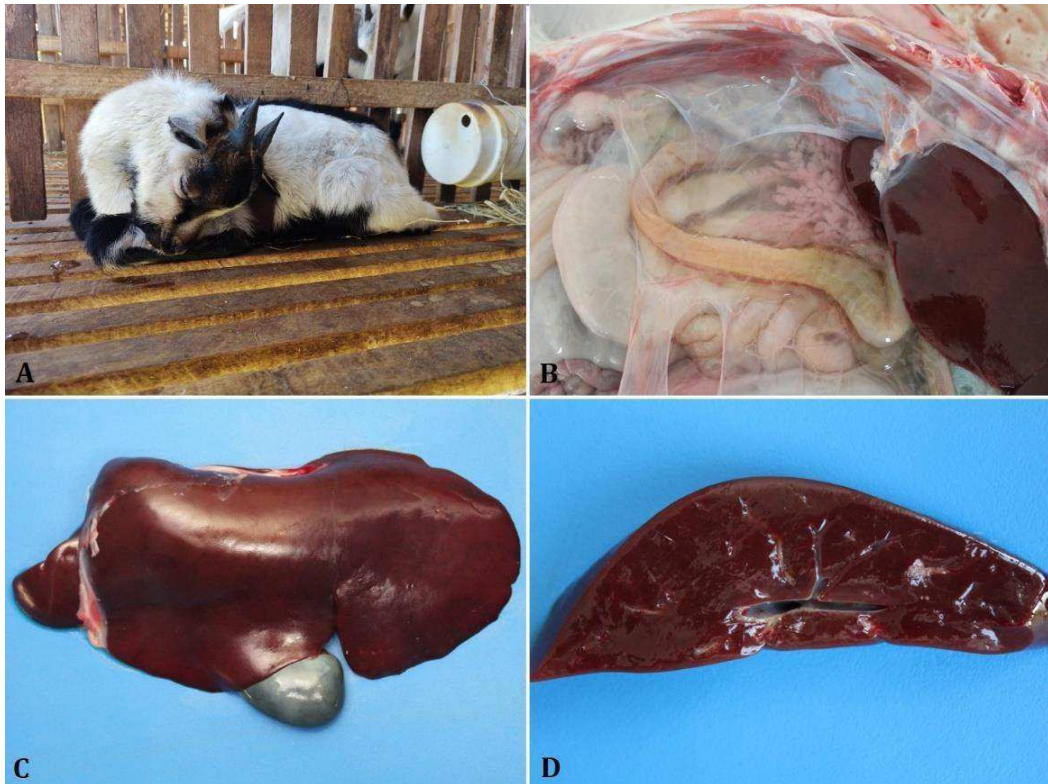
associadas a dissociação dos cordões de hepatócitos (Fig.2B). A fibrose centrolobular moderada foi evidenciada através da coloração especial pelo Tricrômico de Masson (Fig.2C). Observou-se também ocasionais corpúsculos de Councilman-Rocha Lima. No sistema nervoso haviam discretos astrócitos de Alzheimer tipo II na substância cinzenta na região do córtex occipital, caracterizados por astrócitos em pares ou múltiplos com núcleos grandes, ovalados, com cromatina frouxamente arranjada (Fig.2D). Não foram observadas alterações nos demais órgãos.



2Fig.2. Ovino 1 intoxicado experimentalmente por *Tephrosia cinerea*. **(A)** Fígado com fibrose moderada na região centrolobular associada a hemorragia. HE, obj.10x. **(B)** Fígado com região centrolobular apresentando distensão sinusoidal acentuada, acompanhada de hemorragia acentuada, por vezes, formando pontes entre as regiões centrolobulares, associadas a dissociação dos cordões de hepatócitos. HE, obj.40x. **(C)** Fígado com fibrose centrolobular moderada. Tricrômico de Masson, obj.10x. **(D)** Substância cinzenta do córtex occipital, evidenciando discretos astrócitos de Alzheimer tipo II (seta). HE, obj.40x.

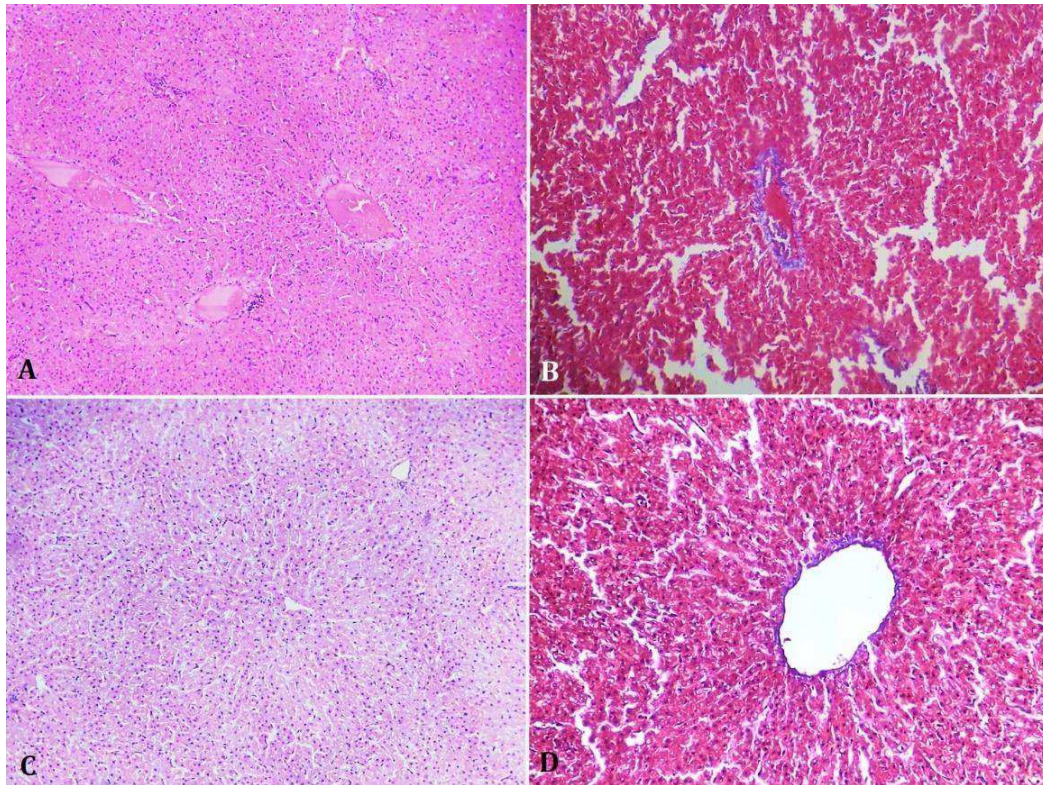
O Caprino 2 totalizou 62 dias de intoxicação experimental. Durante 25 dias consumiu 1,938kgs da mistura no cocho, de um total de 5,338kgs (10g/kg de planta moída + concentrado a 1% do peso vivo). Durante 36 dias, foi realizada a administração induzida da planta por via oral com consumo total de 3,920kgs. O animal apresentava apatia, sonolência e emagrecimento. Após 62 dias de experimento, o animal foi encontrado na baia em decúbito lateral, sem conseguir ficar em estação, entretanto respondível aos estímulos externos. Ao ser mantido em decúbito esternal, o mesmo rotacionava o pescoço em direção ao flanco (Fig.3A). O animal morreu e foi realizada a necropsia. O Caprino 1 totalizou 112 dias de intoxicação experimental. Durante 25 dias consumiu 1,845kgs da mistura no cocho, de um total de 4,174kgs (5g/kg de planta moída + concentrado a 1% do peso vivo). Durante 86 dias foi realizada a administração induzida da planta por via oral com consumo total de 5,121kgs. Após 112 dias de experimento, o animal estava ativo, sem sinais clínicos, com região abdominal, moderadamente abaulada e emagrecimento. Foi realizada a eutanásia do animal. O Caprino 2 perdeu o equivalente a 1,800kgs de peso em 62 dias de experimento e o Caprino 1 perdeu 3,400kgs de peso em 112 dias de experimento.

Na necropsia do Caprino 2 foi observado na face e na região submandibular acentuado edema, com teste de Godet positivo, e ao rebater a pele, havia material gelatinoso e translúcido. Na cavidade abdominal foi observado aproximadamente 34ml de líquido discretamente amarelado. Ao redor das vísceras e no mesentério observou-se material gelatinoso e translúcido (Fig.3B). No fígado haviam discretas áreas enegrecidas na superfície capsular (Fig.3C) e ao corte, áreas puntiformes avermelhadas distribuídas por todo parênquima (Fig.3D). A parede da vesícula biliar moderadamente espessada. Nas pregas abomasais foi observado acentuado edema. No saco pericárdico havia 13ml de líquido translúcido. No pericárdio, acentuada atrofia gelatinosa da gordura no sulco coronário e evidenciação de vasos linfáticos. Foi observado ao desarticular a articulação atlanto-occipital, material gelatinoso e translúcido no canal medular. Na necropsia do Caprino 1 observou-se no fígado áreas discretas multifocais deprimidas na superfície capsular e no saco pericárdico foi observado 5ml de líquido translúcido.



3Fig.3. Caprino 2 intoxicado experimentalmente por *Tephrosia cinerea*. **(A)** Animal em decúbito esternal, rotacionando o pescoço em direção ao flanco. **(B)** Cavidade abdominal com presença de material gelatinoso e translúcido ao redor das vísceras e no mesentério. **(C)** Fígado com discretas áreas enegrecidas na superfície capsular. **(D)** Fígado, superfície de corte, com áreas puntiformes avermelhadas distribuídas por todo parênquima.

Histologicamente o fígado do Caprino 2 apresentava discreta fibrose centrolobular (Fig.4A) associada a discreta dissociação dos cordões de hepatócitos e discreta degeneração vacuolar do citoplasma dos hepatócitos. Não foram observadas alterações no sistema nervoso central e demais órgãos. A fibrose centrolobular discreta no Caprino 2 foi evidenciada através da coloração especial pelo Tricrômico de Masson (Fig.4B). No fígado do Caprino 1 havia degeneração vacuolar intracitoplasmática difusa de hepatócitos (Fig.4C). A fibrose centrolobular discreta no Caprino 1 foi evidenciada através da coloração especial pelo Tricrômico de Masson (Fig.4D). Não foram observadas alterações no sistema nervoso central e demais órgãos.



4Fig.4. Caprinos 1 e 2 intoxicados experimentalmente por *Tephrosia cinerea*. (A) Fígado do Caprino 2, com discreta fibrose na região centrolobular. HE, obj.10x. (B) Fígado com fibrose centrolobular discreta. Tricrômico de Masson, obj.40x. (C) Fígado do Caprino 1, com degeneração vacuolar intracitoplasmática difusa de hepatócitos. HE, obj.10x. (D) Fígado com fibrose centrolobular discreta. Tricrômico de Masson, obj.40x.

DISCUSSÃO

O estudo experimental com *Tephrosia cinerea* em pequenos ruminantes, demonstra a diferença de palatabilidade da planta entre as espécies, com maior consumo da planta no cocho pelos ovinos, quando comparados aos caprinos. Nesse estudo o Ovino 1 consumiu um total de 8,357kgs da mistura no cocho e 700g da planta por administração sutilmente forçada em 50 dias de experimento. O animal apresentava distensão abdominal e emagrecimento depois de 34 dias de consumo total da mistura no cocho, e no 49º dia apresentou apatia e ataxia discreta, evoluindo para decúbito esternal, ausência de resposta a estímulos externos, dificuldade respiratória, opistótono, trismo mandibular, salivação, disfagia e posteriormente vocalização e movimentos de pedalagem no 50º dia de experimento, sendo realizada a eutanásia. Os achados clínicos descritos nesse estudo experimental corroboram com os achados encontrados por outros autores (Santos et al. 2007; Riet-Correa et al. 2013; Silveira et al. 2018).

Os achados de necropsia também são semelhantes aos descritos em outros estudos com intoxicação espontânea e experimental por *Tephrosia cinerea* (Santos et al. 2007; Riet-Correa et al. 2013; Silveira et al. 2018; Câmara et al. 2019). Os achados histológicos mais evidentes no fígado no Ovino 1 foram a distensão sinusoidal acentuada, associada a hemorragia acentuada na região centrolobular, com áreas multifocais de dissociação dos cordões de hepatócitos. Essas lesões divergem das descritas em outros trabalhos de intoxicação experimental em ovinos por *T. cinerea*, que destacam principalmente a fibrose periacinar, formando pontes interlobulares e associada a moderada hemorragia (Riet-Correa et al. 2013; Silveira et al. 2018). A hemorragia acentuada na região centrolobular é resultante da distensão e ruptura dos sinusoides, ocasionalmente levando a perda da coesão dos cordões de hepatócitos, degeneração e necrose de hepatócitos e conseqüentemente fibrose hepática (Riet-Correa et al. 2013). A lesão no sistema nervoso central, embora que discreta, se assemelha ao descrito no trabalho de Silveira et al. (2018), justificando os sinais clínicos neurológicos discretos presentes no animal desse relato.

A intoxicação experimental com *T. cinerea* em caprinos determina uma maior resistência em consumir a planta moída no cocho, mesmo adicionando concentrado a 1% do peso vivo. O Caprino 2 consumiu um total de 1,938kgs da mistura no cocho e o Caprino 1 consumiu um total de 1,845kgs em 62 e 112 dias de experimento respectivamente. A quantidade reduzida de mistura consumida no cocho pelos caprinos em comparação com o Ovino 1 que consumiu 7,682kgs da mistura no cocho durante 50 dias de experimento, ressalta a característica de resistência da espécie em consumir a planta de forma natural, comprovando que esses animais dificilmente consomem *T. cinera* espontaneamente, mesmo em situações de escassez extrema de pastagem durante a seca.

O Caprino 2 após consumir a planta na dosagem igual ao do Ovino 1 (10g/kg), tanto no cocho, como na administração oral induzida, demonstrou quadro clínico acentuado, horas antes da morte natural, após 62 dias de experimento, o que difere do Ovino 1, que apresentou sinais clínicos 16 dias antes da morte. O Caprino 1 com a dose de 5g/kg da planta, não apresentou sinais clínicos característicos de intoxicação, depois de 112 dias de experimento, constatando a diferença de susceptibilidade a intoxicação por *T. cinerea* entre as espécies. Os achados anatomopatológicos do Caprino 1 e Caprino 2 foram divergentes dos achados encontrados no Ovino 1 e de ovinos de outros estudos experimentais (Santos et al. 2007; Riet-Correa et al. 2013; Silveira et al. 2018; Câmara et al. 2019). As alterações macroscópicas como ascite, edema ao redor vísceras, no mesentério e nas pregas abomasais são descritas em bovinos intoxicados por plantas que contém alcaloides pirrolizídicos (Lucena et al. 2010). Na histologia a discreta fibrose centrolobular do Caprino 2, a degeneração vacuolar intracitoplasmática difusa de hepatócitos no Caprino 1 e a ausência de lesões do sistema nervoso central de ambos os animais, contrastam com os achados histológicos encontrados nos ovinos em outros estudos experimentais, comprovando uma maior vulnerabilidade dos ovinos em consumir a planta de forma natural e em estudos experimentais.

As diferentes formas e concentrações da planta administrada aos ovinos, está diretamente relacionada ao total de dias do estudo experimental, desde o aparecimento dos primeiros sinais clínicos até a morte do animal. Em reprodução experimental com dois ovinos, foi administrado inicialmente sementes trituradas da planta adicionados à ração, na dose de 0,5 a 1% do peso corporal, assim como vagens com sementes e feno de *T. cinerea* (folhas, caules, sementes e flores da planta) por um período de 40-232 dias (Santos et al. 2007). No estudo de Riet-Correa et al. (2013), três ovinos foram alimentados com partes aéreas de *T. cinerea ad libitum* em um período de 55-80 dias. Em outro estudo experimental, dois ovinos consumiram a planta triturada *ad libitum*, por um período de 30-96 dias (Silveira et al. 2018). Os resultados obtidos por Santos et al. (2007) e Riet-Correa et al. (2013), sugerem que as folhas são mais tóxicas que as sementes. No presente trabalho, além de triturar toda a planta, semelhante ao estudo desenvolvido por Silveira et al. (2018), foi realizado a moagem e a pesagem da planta, de acordo com peso dos animais, demonstrando a alta toxicidade da *T. cinerea*, na dose de 10g/kg para o Ovino 1 e o Caprino 2.

CONCLUSÃO

A reprodução experimental da intoxicação por *Tephrosia cinerea* em caprinos, evidencia a diferença de susceptibilidade dessa espécie em relação aos ovinos, caracterizada pela baixa quantidade de planta consumida, na dose semelhante e na dose menor a do ovino. O quadro clínico debilitante e alterações histopatológicas diferentes dos descritos em ovinos, demonstra a necessidade de incluir a intoxicação por *T. cinerea* em caprinos criados em áreas invadidas pela planta, como diagnóstico diferencial de enfermidades que cursam com emagrecimento e morte. Embora existam estudos que demonstram a patogenia e os aspectos epidemiológicos da intoxicação em ovinos, acredita-se que existam diferenças na patogenia e aspectos epidemiológicos da intoxicação em caprinos.

Agradecimentos. - À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa do primeiro autor.

REFERÊNCIAS

- Assis T.S., Medeiros R.M.T., Riet-Correa F., Galiza G.J.N., Dantas A.F.M. & Oliveira M.D. 2010. Intoxicações por plantas diagnosticadas em ruminantes e equinos e estimativa das perdas econômicas na Paraíba. *Pesq. Vet. Bras.* 30(1):13-20. <<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2010000100003>>
- Câmara A.C.L., Antunes J.M.A.P., Meireles C.M.M.O., Borges P.A.C. & Soto-Blanco B. 2019. Intoxicação natural por *Tephrosia cinerea* em ovinos na região Oeste do Rio Grande do Norte. *Acta Sci. Vet.* 47(1): 391. <<http://dx.doi.org/10.22456/1679-9216.92569>>
- Geraldo Neto S.A., Sakamoto S.M. & Soto-Blanco B. 2013. Inquérito epidemiológico sobre plantas tóxicas das mesoregiões Central e Oeste do Rio Grande do Norte. *Cienc. Rural, Santa Maria.* 43(7):1281-1287. <<https://doi.org/10.1590/S0103-84782013000700022>>
- Lucena R.B., Rissi D.R., Maia L.A., Dantas A.F.M., Flores M.A., Nobre V.M.T., Riet-Correa F. & Barros C.S.L. 2010. Intoxicação por alcaloides pirrolizidínicos em ruminantes e equinos no Brasil. *Pesq. Vet. Bras., Rio de Janeiro.* 30(5):447-452. <<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2010000500013>>
- Mendonça M.F.F., Pimentel L.A., Leal P.V., Oliveira Filho J.C., Caymmi L.G., Silva A.W.O., Jesus R.S., Peixoto T.C. 2021. Hepatogenous photosensitization in ruminants and horses caused by the ingestion of *Chamaecrista serpens* in Brazil, *Toxicon*, 93: 13-20. <<https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2021.01.013>>
- Queiroz R.T. & Tozzi A.M.G.A. 2015. *Tephrosia* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB83839>
- Riet-Correa F., Carvalho K.S., Riet-Correa G., Barros S.S., Simões S.V.D., Soares M.P. & Medeiros R.M.T. 2013. Periacinar liver fibrosis caused by *Tephrosia cinerea* in sheep. *Research in veterinary science.* 95(1):200-203. <<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.03.008>>

- Santos J.C.A., Riet-Correa F., Dantas A.F.M., Barros S.S., Molyneux R.J., Medeiros R.M.T., Da Silva D.M. & De Oliveira O.F. 2007. Toxic hepatopathy in sheep associated with the ingestion of the legume *Tephrosia cinerea*. Journal of veterinary diagnostic investigation. 19(6): 690-694. <<https://doi.org/10.1177/104063870701900612>>
- Santos J.C.A., Riet-Correa F., Simões S.V.D. & Barros C.S.L. 2008. Patogênese, sinais clínicos e patologia das doenças causadas por plantas hepatotóxicas em ruminantes e eqüinos no Brasil. Pesq. Vet. Bras., Rio de Janeiro. 28(1):1-14. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2008000100001>>
- Silveira A.M., Moreira E.C., Vaz F., Lorenzo C., Driemeier D., Furlan F., Dantas A.F.M. & Riet-Correa F. 2018. Encefalopatia hepática secundária à intoxicação por *Tephrosia cinerea* em ovinos. Pesq. Vet. Bras., Rio de Janeiro. 38(4): 635-641. <<http://dx.doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-5290>>
- Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. (ed.) Plantas tóxicas do Brasil. Editora Helianthus, 2ª ed., Rio de Janeiro, p.586.

LEGENDAS DAS FIGURAS

Fig.1. Ovino 1 intoxicado experimentalmente por *Tephrosia cinerea*. (A) Animal apresentando distensão abdominal e apatia. (B) Cavidade abdominal com presença de líquido livre discretamente amarelado. Destaque: shunts portossistêmicos entre as veias mesentéricas. (C) Fígado com superfície capsular irregular, por vezes, deprimida por estriações irregulares, com cápsula discretamente esbranquiçada. (D) Fígado, superfície de corte com áreas esbranquiçadas principalmente ao redor de vasos.

Fig.2. Ovino 1 intoxicado experimentalmente por *Tephrosia cinerea*. (A) Fígado com fibrose moderada na região centrolobular associada a hemorragia. HE, obj.10x. (B) Fígado com região centrolobular apresentando distensão sinusoidal acentuada, acompanhada de hemorragia acentuada, por vezes, formando pontes entre as regiões centrolobulares, associadas a dissociação dos cordões de hepatócitos. HE, obj.40x. (C) Fígado com fibrose centrolobular moderada. Tricrômico de Masson, obj.10x. (D) Substância cinzenta do córtex occipital, evidenciando discretos astrócitos de Alzheimer tipo II (seta). HE, obj.40x.

Fig.3. Caprino 2 intoxicado experimentalmente por *Tephrosia cinerea*. (A) Animal em decúbito esternal, rotacionando o pescoço em direção ao flanco. (B) Cavidade abdominal com presença de material gelatinoso e translúcido ao redor das vísceras e no mesentério. (C) Fígado com discretas áreas enegrecidas na superfície capsular. (D) Fígado, superfície de corte, com áreas puntiformes avermelhadas distribuídas por todo parênquima.

Fig.4. Caprinos 1 e 2 intoxicados experimentalmente por *Tephrosia cinerea*. (A) Fígado do Caprino 2, com discreta fibrose na região centrolobular. HE, obj.10x. (B) Fígado com fibrose centrolobular discreta. Tricrômico de Masson, obj.40x. (C) Fígado do Caprino 1, com degeneração vacuolar intracitoplasmática difusa de hepatócitos. HE, obj.10x. (D) Fígado com fibrose centrolobular discreta. Tricrômico de Masson, obj.40x.

CAPITULO II

Spontaneous and experimental poisoning by Nitroxinil at 34% in goats

Trabalho submetido à revista Pesquisa Veterinária Brasileira

(Qualis A4)

Spontaneous and experimental poisoning by Nitroxinil at 34% in goats

João Ricardo C. B. Junior^{2*}, Karoline Lacerda Soares³, Yanca G. S. Soares⁴, Flaviane Neri Lima de Oliveira², Renato Vaz Alves², Eldinê Gomes de Miranda Neto⁵, Antônio F. M. Dantas⁵ e Glauco J. N. Galiza⁵

²Discente do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Av. Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB 58708-110, Brasil. *Autor para correspondência: joaoricardo055@hotmail.com

³Discente do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Centro de Ciências Agrárias – Campus II, Universidade Federal da Paraíba, Rodovia PB 079 – Km 12, Areia, PB 58397000, Brasil.

⁴Programa de Pós-Graduação *Lato Sensu*, modalidade Residência Multiprofissional em Área Profissional da Saúde, em Patologia Animal, CSTR-UFCG, Avenida Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB 58708-110, Brasil.

⁵Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, CSTR-UFCG, Avenida Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB 58708-110, Brasil.

ABSTRACT. - Brito Junior J.R.C., Soares K.L., Soares Y.G.S., Oliveira F.N.L., Alves R.V., Miranda Neto E.G., Dantas A.F.M. & Galiza G.J.N. 2021. **Spontaneous and experimental poisoning by Nitroxinil at 34% in goats.** *Pesquisa Veterinária Brasileira* 36(Supl.):00-00. Laboratório de Patologia Animal, Hospital Veterinário, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Avenida Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB 58708-110, Brasil. E-mail: joaoricardo055@hotmail.com

This study describes the epidemiological, clinical, and pathological aspects of spontaneous and experimental poisoning by nitroxinil at 34% concentration in goats. The outbreak occurred on a farm in the municipality of Prata, Paraíba state. Nitroxinil was administered to a herd of 120 goats, of which 18 presented with anorexia, vocalization, abdominal distension, weakness, staggering, and falls. Necropsy of three goats revealed that the main lesion was acute liver injury. Histologically the liver showed centrilobular necrosis associated with hemorrhage and hepatocyte degeneration. In the kidneys, tubular nephrosis with granular cylinder formations was observed. The lungs showed multifocal to coalescent areas of moderate interalveolar edema and vascular congestion. Experimental poisoning was carried out in two goats, with the same medication and doses administered on the farm. The experimental goats showed clinical signs and macroscopic and histological changes similar to the spontaneously intoxicated goats. The diagnosis of nitroxinil poisoning was made based on epidemiological, clinical, and pathological data, and confirmed by experimental poisoning. The administration of nitroxinil in high doses, associated with high ambient temperature and physical exercises, can cause intoxication with high lethality in goats.

INDEX TERMS: Anthelmintic, overdose, centrilobular hepatic necrosis, nephrosis.

RESUMO - Este estudo descreve os aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos da intoxicação espontânea e experimental por nitroxinil na concentração de 34% em caprinos. O surto ocorreu em uma fazenda no município de Prata, Paraíba. Nitroxinil foi administrado a um rebanho de 120 cabras, das quais 18 apresentavam anorexia, vocalização, distensão abdominal, fraqueza, cambaleando e quedas. A necropsia de três cabras revelou que a lesão principal era uma lesão hepática aguda. Histologicamente, o fígado apresentava necrose centrolobular associada a hemorragia e degeneração de hepatócitos. Nos rins, nefrose tubular com formações de cilindro granular foi observada. Os pulmões apresentavam áreas multifocais a coalescentes de edema interalveolar moderado e congestão vascular. A intoxicação experimental foi realizada em duas cabras, com a mesma medicação e doses administradas na fazenda. As cabras experimentais apresentaram sinais clínicos e alterações macroscópicas e histológicas semelhantes às cabras intoxicadas espontaneamente. O diagnóstico de intoxicação por nitroxinil foi feito com base em dados epidemiológicos, clínicos e patológicos, e confirmado por intoxicação experimental. A administração de nitroxinil em altas doses, associada à alta temperatura ambiente e exercícios físicos, pode causar intoxicação com alta letalidade em caprinos

TERMOS DE INDEXAÇÃO: anti-helmíntico, sobredose, necrose hepática centrolobular, nefrose.

INTRODUCTION

Nitroxinil is an anthelmintic that belongs to the group of phenolic substitutes, which includes disophenol and nitroscanate, and is used to control infections by cestodes, nematodes, and trematodes (Lanusse et al. 2018). Phenolic substitutes have a low safety index, and among them, nitroxinil (4-35 hydroxy-3-iodine-5-nitrobenzonitrila), which is mainly indicated for the control of parasites of the genus *Fasciola* (Almeida et al. 2017a), stands out. Nitroxinil is administered to cattle, sheep, goats, and camelids (Rahman et al. 2017).

Animals intoxicated by phenolic substitutes present pain, anorexia, dehydration, metabolic acidosis, muscle tremors, incoordination, hyperthermia, sweating, tachycardia, and polypnea (Penumarthy et al. 1975, Liao & Oehme 1980, Osweiler 1998).

Pharmacological intoxication associated with the administration of vermifuges has been described in goats that received high doses of ivermectin (Ali & Samra 1987, Abdou & Sharkawy 2004), tetramisol (Philip & Shone 1967), and disophenol (Soares et al. 2001); however, there are no data in the literature on the occurrence of nitroxinil poisoning in this species. The objective of this paper was to describe the epidemiological, clinical and anatomopathological findings of an outbreak of spontaneous poisoning by nitroxinil at 34%, and experimental intoxication in goats.

MATERIALS AND METHODS

The outbreak occurred in the municipality of Prata, state of Paraíba, on a farm geographically located at latitude 07° 41 '27 "S and longitude 37° 04' 49" WO. Animal history and clinical data were obtained from the owner. A goat was sent to the University Veterinary Hospital of the Federal University of Campina Grande (HVU-UFCG), Campus de Patos, PB, and was subjected to complete blood count and serum biochemistry. Three animals were necropsied, and fragments of organs of the abdominal and thoracic cavities, and nervous system, were collected, fixed in 10% buffered formaldehyde, and subsequently processed for the preparation of histological slides stained in hematoxylin and eosin.

Two 18-month-old Moxotó goats (1 and 2), weighing 21 and 18kg respectively, were used for the experimental poisoning. The goats received 2ml and 1.5ml, respectively, of nitroxinil (doses similar to those administered by the farmer in the spontaneous intoxication). After nitroxinil administration, the goats were subjected to physical effort, and were necropsied after death. Fragments of organs from the abdominal cavity, thoracic and nervous system were collected during necropsy and fixed in 10% buffered formaldehyde. The experiment was registered with the Research Ethics Committee (CEP), and Ethics Committee on the Use of Animals (CEUA) with protocol nº68-2018.

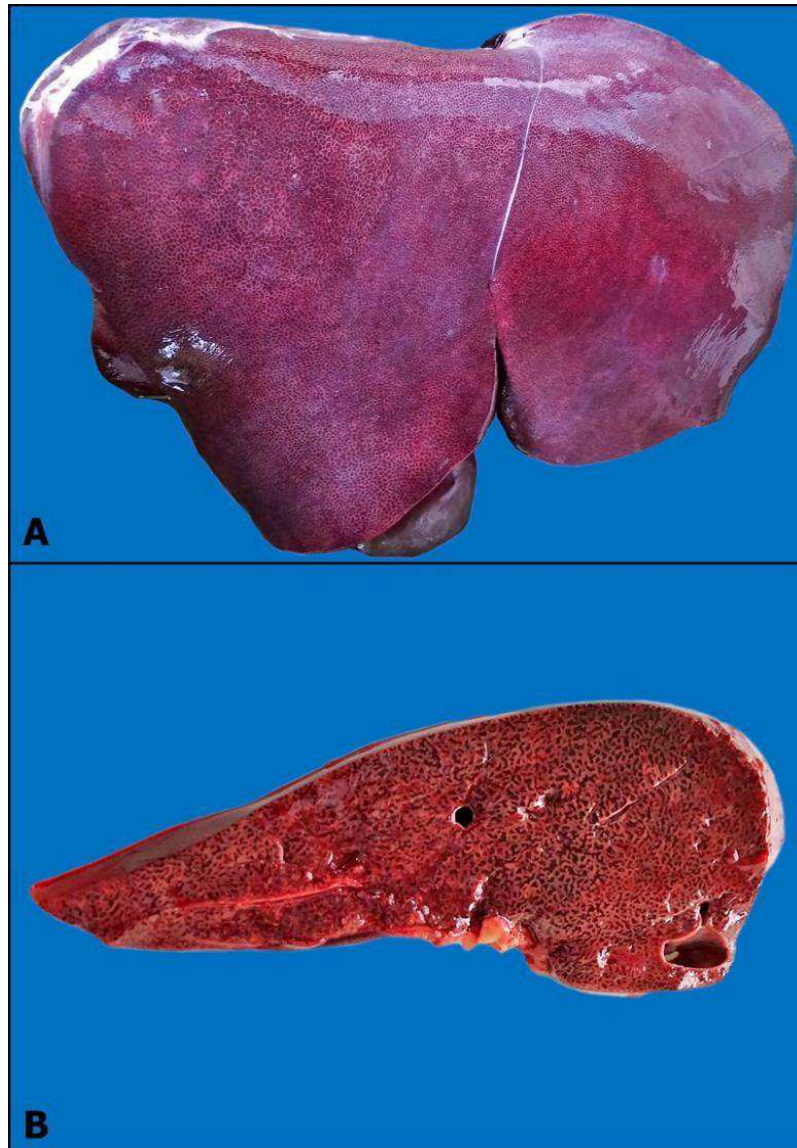
RESULTS

The outbreak of nitroxinil poisoning occurred after the farmer administered the anthelmintic to all 120 goats in the herd. The drug was administered subcutaneously in the scapular region at the following doses: 0.5mL (17mg/kg) in goats weighing 10kg; 1.5mL (25.5mg/kg) in goats weighing 20kg; and 2mL (22.6mg/kg) in goats weighing 30kg.

After the drug was administered, 80 goats were released to pasture and the remaining 40 goats were kept in the shaded corral. A few hours later, 18 of the 80 goats that were released into the pasture showed anorexia, vocalization, abdominal distension, weakness, staggering and falls. The first death occurred five hours after administration and, on the same day, 13 more goats died. In two days after the application, three more deaths occurred, bringing the total death toll to 17. Clinical signs and death occurred only in goats that were released to pasture. Of the goats that died, a two-year-old Canindé goat (A) and a two-year-old Boer goat (B) were necropsied during the farm visit. A two-year-old Boer goat (C) that received 2ml of nitroxinil was referred to the HVU/UFCG.

Goat C presented an inability to stay in the station, sternal recumbence, self-auscultation posture, opisthotonos, decreased muscle tone of the thoracic and pelvic limbs, mydriasis not responsive to the luminosity test, loss of rumen stratification, abdominal distension, and semi-solid stools. Heart and respiratory rates were found increased by 120bpm (70-90bpm) and 100mpm (25-35mpm), respectively. In the serum biochemistry of goat C, significant increases in the levels of urea (310.9mg/dL [21.4 - 42.8mg/dL]), creatinine (5.7mg/dL [1 - 1.8mg/dL]), and creatinine kinase (CK) (265.2U/L [0.8 - 8.9U/L]) were observed. The animal was treated with 1.5L of saline (NaCl 0.9%) intravenously (IV), 50mL of IV vitamins and minerals (Hertavita®), 2mL of steroidal anti-inflammatory (Cort-trat®) intramuscularly (IM), 20mL of anti-inflammatory and analgesic (DMSO®) IV, and 0.5L of ruminal fluid via nasogastric tube. The goat died after two days of treatment and was necropsied.

On the necropsy of the three goats, regular body score, and normal oral, ocular, and vulvar mucous membranes, were observed. In the subcutaneous tissue, dark red multifocal areas were observed, mainly in goat B. The liver of the three goats showed marked, enhanced lobular pattern, characterized by a reddish central area delimited by pale areas that varied from accentuated in goats A and B, to mild in goat C (Fig.1). The lungs were diffusely bright red and non-collapsed with multifocal areas of hemorrhage around the thoracic aorta. At the opening of the trachea, and when cutting the pulmonary parenchyma, there was a marked amount of foamy liquid (edema). In the heart of the three goats, there were multiple petechiae in the epicardium. The kidneys of goats A and B were diffusely red on the subcapsular and cut surface.



5Fig.1. Poisoning by Nitroxinil at 34% in goats. (A) Liver with accentuated lobular pattern. (B) Cut surface of the liver with red-black multifocal areas interspersed with pale areas in the parenchyma.

Microscopically, in the liver of the three goats, necrosis and hemorrhage were observed in the centrilobular regions (Fig.2 A). The hepatocytes adjacent to the necrotic areas showed slight cytoplasmic vacuolization (Fig.2 B). In the kidneys, degeneration and necrosis of the tubular epithelium were characterized by hypereosinophilia of the cytoplasm, and pycnotic and karyorrhexis nuclei (Fig.2 C). In the tubular lumen, cell debris interspersed with finely granular material were observed. In the lungs, diffuse and moderate congestion was observed, in addition to multifocal areas of discrete deposition of eosinophilic, amorphous, and homogeneous material (edema), obliterating the alveolar lumen.

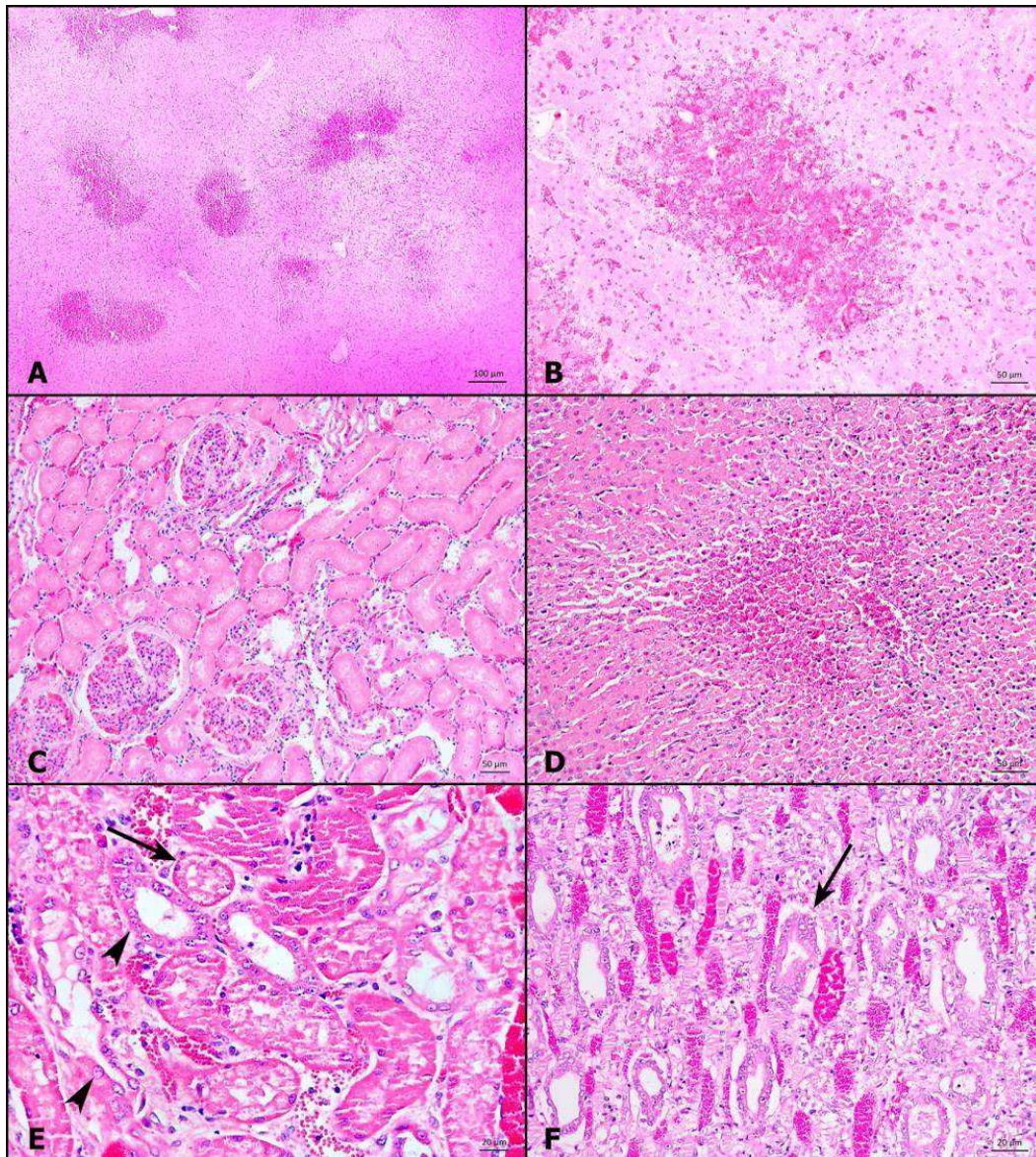
In experimental poisoning, goats 1 (21kg) and 2 (18kg) received doses similar to those administered by the owner in the outbreak: 2mL (32.3mg/kg) in goat 1, and 1.5mL (28.3mg/kg) in goat 2, by the subcutaneous route in the scapular region. After administration, they were placed in a corral and subjected to physical exercise under the sun for 30 minutes, and subsequently were placed in the stall for observation.

In the experimental poisoning, five hours after administration of the vermifuge, goat 1 showed clinical signs of apathy, anorexia, ruminal atony, and difficulty in standing. The signs progressed to tachycardia, tachypnea, tympany, lateral torsion of the head, lateral recumbence, muscles tremors and spasms, and vocalization, followed by death. The clinical course was seven hours.

Upon necropsy, the liver had reddish and punctate multifocal areas distributed throughout the parenchyma and on the cut surface. In the heart, there were reddish multifocal areas in the pericardium and the endocardium. The lungs were diffusely bright and not collapsed with reddish multifocal areas, randomly distributed. The kidneys showed slightly reddish capsular surface, slightly pale cortical region, and reddish linear areas in the medullary region.

Microscopically, there was marked centrilobular necrosis in the liver associated with hemorrhage (Fig.2 D), surrounded by hepatocytes with microvacuolar degeneration in the cytoplasm and discrete mononuclear inflammatory infiltrates. In the medullary region of the kidneys, there were multifocal areas of discrete degeneration and necrosis of the tubular epithelium, characterized by hypereosinophilic epithelial cells with pyknosis and karyorrhexis. In the lung, there was moderate congestion and discrete eosinophilic, amorphous and homogeneous material (edema), obliterating the alveolar lumen.

Goat 2 showed clinical signs of apathy and respiratory difficulty. It died six days after the administration of the vermifuge. Upon necropsy, the lesions observed in the liver and lung were similar to those observed in goat 1. Kidneys showed pallor in the cortical region and linear reddish areas in the medullary region. Microscopic lesions were also similar, varying with the degree of injury. In the liver, centrilobular necrosis and hemorrhage were moderate. In the kidneys, tubular necrosis was moderate, with regeneration of the tubular epithelium (Fig.2 E and F), characterized by intact basement membranes and karyomegaly. In the tubular lumen there was granular material and cellular debris. In the lungs, there was moderate congestion and edema.



6Fig.2. Poisoning by Nitroxinil at 34% in goats. (A) Liver, multifocal areas of necrosis and hemorrhage are seen in the centrilobular region. HE, obj. 10x. (B) Liver, areas of necrosis and central-lobular hemorrhage are seen surrounded by hepatocytes with vacuolated cytoplasm. HE, obj. 20x. (C) Kidney, with degeneration and necrosis of the tubular epithelium, characterized by hypereosinophilia of the cytoplasm and pyknosis and karyorrhexis of the nuclei. HE, obj. 20x. (D) Liver, experimental animal, with necrosis and centrilobular hemorrhage, HE, obj. 20x. (E) Kidney, experimental animal, with epithelial degeneration and necrosis (arrow), associated with tubular regeneration (arrowhead) in the cortical region. HE, obj. 40x. (F) Kidney, experimental animal, with marked tubular regeneration (arrow) in the medullary region. HE, obj. 40x.

DISCUSSION

The diagnosis of nitroxinil poisoning in goats was based on epidemiological, clinical, and anatomopathological findings, and confirmed by experimental poisoning. Vermifuge poisoning is highly lethal, since during deworming, doses can be “estimated” or “standardized” to facilitate handling with animals from the same herd that often have weight differences (Seixas et al. 2006). On these occasions, there may be overdoses.

The recommended dose of this drug for small ruminants is 10mg/kg (Almeida et al. 2017b, Rahman et al. 2017), while the doses used on the farm were about twice as high as indicated on the package insert. There are no reports of intoxication by this anthelmintic in goats. In sheep, however, incoordination, tremors, decubitus, and death, have been noted in animals that received an overdose (Campello et al. 2020). Nitroxinil is indicated only for cattle and sheep according to the manufacturer of the medication used on the farm (Chagas et al. 2013). The use of vermifuges with a new active principle, or little used in herds, is a common practice in the region, due to the parasitic resistance to the major commercialized anthelmintics (Lima et al. 2010).

In cases of disophenol poisoning, which is a phenolic substitute just like nitroxinil (Almeida et al. 2017a), sheep and goats presented, about three hours after administration, severe pain, muscle tremors, incoordination, hyperthermia, sweating, tachycardia, and tachypnea, in fatal cases (Penumarthy et al. 1975, Soares et al. 2001, Alves et al. 2018). Upon necropsy, hemorrhages in the subcutaneous tissue and hyperemia of the mesentery were also observed after disophenol poisoning in goats (Penumarthy et al. 1975, Soares et al. 2001). Severe liver disease results in a reduction in most clotting factors (Mosier 2017), and the acute injury observed in the animals in this study may suggest a decrease in the production of these factors, and the consequent appearance of areas of hemorrhage.

The hepatic alterations found were similar to those described in the literature for poisoning by phenolic substitutes (Soares et al. 2001, Alves et al. 2018), macroscopically characterized by appearance of lobular pattern. Microscopic findings of degeneration, necrosis, and sometimes centrilobular congestion have been described in cases of nitroxinil poisoning in sheep (Campello et al. 2020), and in cases of disophenol poisoning in goats and sheep (Soares et al. 2001, Alves et al. 2018). The acute liver injury characterized by marked centrilobular necrosis is due to the greater amount of cytochrome P450 in the hepatocytes of this region, that induces the formation of reactive metabolites that are responsible for cell damage, in addition to the lower oxygen tension in this zone (Barros 2016, Brown et al. 2017). Based on these observations, it is suggested that the pathogenesis of nitroxinil intoxication may be similar to diseases that present with acute liver failure of toxic origins, such as acute poisoning by hepatotoxic plants (Bezerra et al. 2012).

Edema and pulmonary congestion were seen in all necropsied animals. These lesions have also been described by Campello et al. (2020) and Alves et al. (2018) for nitroxinil toxicosis in sheep, and disophenol in goats and sheep. Tachypnea is a response of the respiratory center (brain stem) primarily associated with increased oxygen consumption and increased blood CO₂ levels (Reece 2006). In addition, the increase in respiratory rate helps dissipate heat mainly during periods of elevated body temperature (Robertshaw 2006). Associated with this, the lack of sufficient ATP decreases the contractile capacity of the heart, increasing the heart rate to compensate for it (Engen 2006); however, due to the low ATP, the cardiac output may continue to decrease, leading to the development of edema and pulmonary congestion.

The increases in the levels of urea and creatinine, metabolites of renal excretion, indicate acute renal injury (Meuten 2015), observed in animals with severe nephrosis. Nephrosis was the main renal disorder seen in goats with an acute condition; however, in a goat that had a longer clinical course, nephrosis was associated with marked tubular regeneration, reinforcing the hypothesis that the drug is capable of inducing both acute and renal liver damage. Tubular regeneration occurs in cases where the basement membranes remain intact and act as a support for tubular regeneration (Breshears & Confer 2018).

Only goats that were released to pasture showed clinical manifestation, possibly associated with high environmental temperature and physical effort. Also, environmental temperature and physical exercise are factors that enhance the onset of the intoxication, since phenolic substitutes increase cell metabolism and the need for oxygen (Legendre 1973). The outbreak occurred in a semi-arid climatic region, where temperatures can reach 33°C (Inmet 2010) which, in combination with physical exercise, could have contributed to the increase in the animal's metabolism and, consequently, greater absorption of the vermifuge (Meerdink 1989, Mendonça et al. 2010, Bertoni et al. 2017). Poisoning by other antiparasitic drugs, such as organophosphates and pyrethroids, mainly affect animals that receive an overdose of the drug in combination with high environmental temperature and physical effort (Bertoni et al. 2017).

Pharmacological intoxications in animals occur because of overdose of medications, exceeding the recommended dose several times (Furlan et al. 2009). It is believed that these intoxications occur in a large number of animals, due to the lack of information and neglect in the use of medications (Bertoni et al. 2017). Although the optimal dose of drugs is clearly indicated on the package insert or medical prescription, not weighing the animals, leading to erroneous estimates of weight, or dividing by categories (age and sex), are the main causes of overdose in veterinary medicine (Chagas et al. 2013). Therefore, it is recommended to weigh the animals, as well as observe the route of administration, and indicate the animal species to be treated using the product.

The main differential diagnoses of nitroxinil poisoning in goats include poisoning by hepatotoxic plants such as *Crotalaria retusa* (Maia et al. 2013) and *Cestrum laevigatum* (Peixoto et al. 2000, Brito et al. 2010), and nephrotoxic plants such as *Amaranthus spinosus* and *Combretum glaucocarpum* Mart. (sin.: *Thiloo glaucocarpa*) (Melo et al. 2014, Helayel et al. 2017).

CONCLUSION

We concluded that nitroxinil 34%, when administered in high doses associated with high ambient temperature and physical exercise, results in intoxication with high lethality in goats. It is characterized by acute liver necrosis and tubular nephrosis, and should be included as a differential diagnosis of intoxication by hepatotoxic and nephrotoxic plants that affect animals in the region. Due to the toxicity observed in this outbreak, the drug should be used in the doses recommended by the manufacturer, respecting the indications for each species and the weight of the animals.

Acknowledgments - To the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for the scholarship of the first author.

Conflict of interest statement. - The authors declare having no conflicts of interest.

Authors' contributions. - Brito Junior J.R.C., Soares K.L., Soares Y.G.S., Oliveira F.N.L., Alves R.V., Miranda Neto E.G., Dantas A.F.M., and Galiza G.J.N contributed to the collection of epidemiological data, observation of clinical signs, experimental reproduction, and necropsy, in addition to contributing substantially to macroscopic and histopathological analysis, drafted and revised the manuscript and its final version.

REFERENCES

- Abdou K.H.A. & Sharkawy A.A. 2004. Some toxicological studies on ivermectin in goats. In: Proceeding of the 20 Annual meeting of the Egyptian Society of toxicology. Bibliotheca Alexandria, Alexandria University, Alexandria, Egypt. p. 18-19.
- Ali B.H. & Samra M.T.A. 1987. Some clinico-pathological observations in Nubian goats treated with ivermectin. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*. 40(2):141-145. <<https://doi.org/10.19182/remvt.8667>>
- Almeida M.A.O., Ayres M.C.C., Santarém V.A. & Lambert S.M. 2017a. Agentes antinematódeos, p. 860-878 In: Spinosa H.S., Górnaiak S.L. & Bernardi M.M. *Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária*. 6ª ed. Editora Guanabara Koogan LTDA, Rio de Janeiro.
- Almeida M.A.O., Ayres M.C.C. & Santarém V.A. 2017b. Agentes anticestódios e antitrepatódios, p. 849-860. In: Spinosa H.S., Górnaiak S.L. & Bernardi M.M. *Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária*. 6ª ed. Editora Guanabara Koogan LTDA, Rio de Janeiro.
- Alves R.C., Soares K.L., Olinda R.G., Oliveira R.L., Maia L.A., Oliveira F.N.L., Galiza G.J.N. & Dantas A.F.M. 2018. Surto de intoxicação por disofenol em ruminantes no Estado da Paraíba (X Endivet, Recife, PE). *Pesq. Vet. Bras*. 38 (Supl.):326-328. (Resumo).
- Barros C.S.L. 2016. Fígado, vias biliares e pâncreas exócrino, p.181-265. In: Santos R.L. & Alessi A.C. *Patologia Veterinária*. 2ª ed. Roca, Rio de Janeiro.
- Bertoni E.S., Biondo A.W., Minozzo C.D., Brum J.S., Filho I.R.B. & Perotta J.H. 2017. Intoxicação aguda por organofosforado em bovinos do Paraná, Brasil. *Arch. of Vet. Scie*. 22(4):62-66. <<http://dx.doi.org/10.5380/avs.v22i4.56886>>
- Bezerra C.W.C., Medeiros R.M.T., Rivero B.R.C., Dantas A.F.M. & Amaral F.R.C. 2012. Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos da microrregião do Cariri Cearense. *Ciênc. Rural*. 42(6), 1070-1076. <<https://doi.org/10.1590/S0103-84782012000600020>>
- Breshears M.A. & Confer A.W. 2018. Sistema urinário, p.617-681. In: McGavin M.D. & Zachary J.F. *Bases da patologia em veterinária*. Tradução Alexandre Aldighieri Soares. et al. 6ª ed. Elsevier, Rio de Janeiro.
- Bruto M.F., França T.N., Oliveira L.I., Ramos A.S., Peixoto T.C. & Aragão A. P. 2010. Intoxicação espontânea por *Cestrum laevigatum* em um caprino no Rio de Janeiro- Relato de caso. *Braz. Jour of Vet. Med*. 32(2), 55-57. <<http://rbmv.org/index.php/BJVM/article/view/830>>
- Brown D.L., Vann Wettere A.J. & Cullen J.M. 2017. Hepatobiliary System and Exocrine Pancreas, p.412-470. In: Zachary J.F. *Pathologic basis of veterinary disease*. 6ª ed. Elsevier, St. Louis, Missouri.
- Campello S.B., Dos Anjos B.L., Moraes D.P., Wronski J.G. & De Assis Brasil N. 2020. Surto de Intoxicação por Nitroxinil em Ovinos. *Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão*. 8(2). (Resumo). <<https://periodicos.unipampa.edu.br/index.php/SIEPE/article/view/90509>>
- Chagas A.C.S., Domingues L.F. & Gaínza Y.A. 2013. Cartilha de vermifugação de ovinos e caprinos, p.1-10. Embrapa Pecuária Sudeste. 1ª ed. São Carlos.
- Engen R.L. 2006. Dinâmica do Sistema Cardiovascular, p.163-173. In: Reece W.O. *Fisiologia dos Animais Domésticos*. 12ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.

- Furlan F.H., Licioli J., Borelli V., Fonteque H., Stolf L., Traverso S.D. & Gava A. 2009. Intoxicação por closantel em ovinos e caprinos no Estado de Santa Catarina. *Pesq. Vet. Bras.* 29, 98-93. <<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2009000100014>>
- Helayel M.A., Ramos A.T., Goloni A.V., Veiga A. P.M., Moron S.E., Viana R.H.O. & Carvalho Júnior, C.P. 2017. Intoxicação espontânea por *Combretum glaucocarpum* Mart. [sin.: *Thiloa glaucocarpa* (Mart.) Eichler] (*Combretaceae*) em bovinos. *Ciênc. Anim. Bras.* v. 18. <<https://doi.org/10.1590/1089-6891v18e-31906>>
- Instituto Nacional De Meteorologia. INMET. 2010. Ministério de Pecuária e Abastecimento. Gráficos climatológicos. Brasília-DF.
- Lanusse C.E., Alvarez L.I. & Virkel G.L. 2018. Anticestodal and Antitrematodal Drugs, p.1081 – 1101. In: Riviere J.E. & Papich M.G. *Veterinary Pharmacology & Therapeutics*. 10^a ed. Wiley Blackwell, New York.
- Legendre A.M. 1973. Disophenol toxicosis in a dog. *Jour. of the American Vet. Med. Assoc.* 163(2):149-150.
- Liao J.T. & Oehme F.W. 1980. Literature reviews of phenolic compounds. I. Phenol. *Vet. and Human Toxic.* 22(3):160-164.
- Lima W.C., Athayde A.C.R., Medeiros G.R., Lima D.A.S.D., Borburema J.B., Santos E.M., Vilela V.L.R. & Azevedo S.S. 2010. Nematóides resistentes a alguns anti-helmínticos em rebanhos caprinos no Cariri Paraibano. *Pesq. Vet. Bras.* 30(12):1003-1009. <<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2010001200001>>
- Maia L.A., Lucena R.B., Nobre V.M.T., Dantas A.F.M., Colegate S.M. & Riet-Correa F. 2013. Natural and experimental poisoning of goats with the pyrrolizidine alkaloid-producing plant *Crotalaria retusa* L. *Jour. of Vet. Diag. Invest.* 25(5):592-595. <<https://doi:10.1177/1040638713495544>>
- Melo D.B., Simões S.V.D., Dantas A.F.M., Galiza G.J.N., Matos R.A.T., Medeiros R.M.T. & Riet-Correa F. 2014. Intoxicação crônica por *Amaranthus spinosus* em bovino no semiárido paraibano. *Ciênc. Rural.* 44(5):861-864. <<https://doi.org/10.1590/S0103-84782014000500017>>
- Meerdink G.L. 1989. Organophosphorus and carbamate insecticide poisoning in large animals. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 52(2):375-389. <[https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30982-8](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30982-8)>
- Mendonça F.S., Freitas S.H., Dória, R.G.S., Camargo L.M. & Evêncio-Neto J. 2010. Intoxicação por diclorvós e cipermetrina em bovinos em Mato Grosso – Relato de Caso. *Ciênc. Anim. Bras.* 11(3):743-749. <DOI:10.5216/cab.v11i3.1029>
- Meuten D. 2015. Avaliação e Interpretação Laboratorial do Sistema Urinário, p.689-806. In: Thrall M.A., Weiser G., Allison R.B. & Campbell T.W. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. 2^a ed. Roca, São Paulo.
- Mosier D.A. 2017. Vascular Disorders and Thrombosis, p 44-72. In: Zachary J.F. *Pathologic basis of veterinary disease*. 6^a ed. Elsevier, St. Louis, Missouri.
- Osweiler G.D. 1998. *Toxicologia veterinária*. Artes Médicas, Porto Alegre. 526p.
- Peixoto P.V., Brust L.C., Duarte M.D., Franca T.N., Duarte V.C. & Barros C.S. 2000. *Cestrum laevigatum* poisoning in goats in southeastern Brazil. *Vet. Hum. Toxicol.* 42(1):13-4. <PMID: 10670079>
- Penumarthy L., Frederich W.O. & Monty J.M. 1975. Investigations of therapeutic measures for disophenol toxicosis in dogs. *American Jour. of Vet. Research.* 36(8):1259-1262. < PMID: 1155844>
- Philip J.R. & Shone D.K. 1967. Anthelmintic and toxicity studies with tetramisol. II Toxicity studies in sheep and goats. *Jour. of the South African Vet. Assoc.* 38(3):287-293.
- Rahman M.M., Kabir A., Ahmed S., Islam M.K., Rahman M.S., Alam S., Mubeen M.A.A., Yasmin M.S., Hossain M.S., Haque M.W.U. & Mia M.T. 2017. Nitroxylin uncouples oxidative phosphorylation in the cell mitochondria and a drug wherever injectables are preferred over drenches. *Bangl. J. Vet. Med.* 15(1):45-49. <<https://doi.org/10.3329/bjvm.v15i1.34054>>
- Reece W.O. 2006. Respiração nos mamíferos, p 462-475. In: Reece W.O. *Fisiologia dos Animais Domésticos*. 12^a ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Robertshaw D. 2006. Regulação da Temperatura e o Ambiente Térmico, p 897-909. In: Reece W.O. *Fisiologia dos Animais Domésticos*. 12^a ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Seixas J.N., Peixoto P.V., Armien A.G., Jabour F.F., Brito M.F. 2006. Aspectos clínicos e patogenéticos da intoxicação por abamectina em bezerros. *Seropédica: Pesq. Vet. Bras.* 26(3):161-166. <<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2006000300006>>
- Soares M.P., Karam F.S.C. & Andrade G.B. 2001. Intoxicação por Disofenol em caprinos. *Cienc. Rural.* 31(1):155-157. <<https://doi.org/10.1590/S0103-84782001000100026>>

FIGURE LEGENDS

Fig.1. Poisoning by Nitroxinil at 34% in goats. (A) Liver with accentuated lobular pattern. (B) Cut surface of the liver with red-black multifocal areas interspersed with pale areas in the parenchyma.

Fig.2. Poisoning by Nitroxinil at 34% in goats. (A) Liver, multifocal areas of necrosis and hemorrhage are seen in the centrilobular region. HE, obj. 10x. (B) Liver, areas of necrosis and central-lobular hemorrhage are seen surrounded by hepatocytes with vacuolated cytoplasm. HE, obj. 20x. (C) Kidney, with degeneration and necrosis of the tubular epithelium, characterized by hypereosinophilia of the cytoplasm and pyknosis and karyorrhexis of the nuclei. HE, obj. 20x. (D) Liver, experimental animal, with necrosis and centrilobular hemorrhage, HE, obj. 20x. (E) Kidney, experimental animal, with epithelial degeneration and necrosis (arrow), associated with tubular

regeneration (arrowhead) in the cortical region. HE, obj. 40x. (F) Kidney, experimental animal, with marked tubular regeneration (arrow) in the medullary region. HE, obj. 40x.

CONCLUSÃO GERAL

Com a realização do estudo experimental da intoxicação por *Tephrosia cinerea* em caprinos, foi possível constatar que a espécie possui maior resistência em consumir a planta de forma espontânea quando comparado com os ovinos, evidenciando as diferenças nos achados epidemiológicos, clínicos e anatomopatológicos da intoxicação entre caprinos e ovinos. A intoxicação experimental com sobredosagem do Nitroxinil 34% em caprinos confirma o diagnóstico do surto, destacando a importância da utilização correta do fármaco, nas doses recomendadas pelo fabricante, tornando importante o cuidado com manejo desses animais durante e após a administração do fármaco.