



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**INFLUÊNCIA DA EXPOSIÇÃO SOLAR NA
INTOXICAÇÃO POR *Brachiaria* spp. EM OVINOS**

MIRNA RIBEIRO PORTO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

BRASÍLIA-DF

JANEIRO/ 2012



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

INFLUÊNCIA DA EXPOSIÇÃO SOLAR NA INTOXICAÇÃO POR *Brachiaria* spp. EM OVINOS

MIRNA RIBEIRO PORTO

ORIENTADOR: PROF. DR. MÁRCIO BOTELHO DE CASTRO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

PUBLICAÇÃO:

**BRASÍLIA-DF
JANEIRO/ 2012**

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

PORTO, M. R. **Influência da exposição solar na intoxicação por *Brachiaria* spp. em ovinos.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2012, 38 p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de mestrado empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor a Universidade de Brasília e acha-se arquivado na secretaria do programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

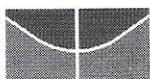
FICHA CATALOGRÁFICA

Porto, Mirna Ribeiro

Influência da exposição solar na intoxicação por *Brachiaria* spp. em ovinos. / Mirna Ribeiro Porto orientação de Márcio Botelho de Castro – Brasília, 2012. 38 p.: il.

Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2012.

1. *Brachiaria* spp. 2. Ovinos. 3. Intoxicação. 4. Exposição solar. 5. Plantas tóxicas I.PORTO, M. R. II. Título.



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

INFLUÊNCIA DA EXPOSIÇÃO SOLAR NA INTOXICAÇÃO POR *Brachiaria* spp EM OVINOS

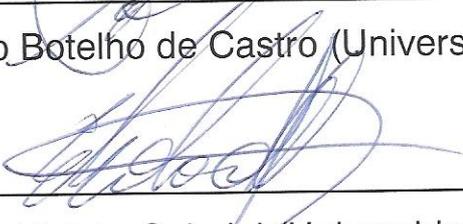
MIRNA RIBEIRO PORTO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA
AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
SAÚDE ANIMAL, COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO
DO GRAU DE MESTRE EM SAÚDE ANIMAL

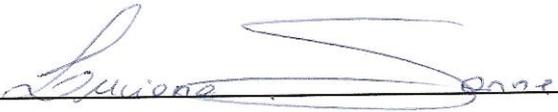
APROVADO POR:



Prof. Dr. Márcio Botelho de Castro (Universidade de Brasília)



Prof. Dr. Edson Moleta Colodel (Universidade Federal de Mato Grosso)



Prof.ª Dr.ª Luciana Sonne (Universidade de Brasília)

Brasília, 15 de fevereiro de 2012.

***À minha mãe
Mais que um laço de sangue...***

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus e a minha mãe, Coracy Ribeiro, que sempre me apoiou em todos os momentos, por ter sido indispensável na minha formação desde os primeiros passos até os dias de hoje e modelo de caráter e perseverança. Macaquinha você é meu orgulho, meu exemplo!

À minha família pelos momentos de união, amparo e lazer.

À minha irmã Marina pela simples presença em minha vida.

Às minhas tias Marley, Elisa, Vera e Fátima Mustafa pelos conselhos e risadas.

Ao Paizão, Mãezona e Carol, minha segunda e amada família. Vocês têm um significado enorme na minha vida!

Ao Delor, amigo e o “paidrasto” mais carinhoso do mundo.

Todos vocês são o meu orgulho, o meu motivo de viver, a minha força pra lutar. É por vocês que quero ser alguém. Amo-os muito!

Agradeço de coração ao Márcio, meu professor, preceptor, orientador e amigo, pela paciência, confiança e ensinamentos. Mesmo com as broncas e nas que fiquei brava com você, muito obrigada por tudo.

À Lú e ao Janildo, pelos ensinamentos e por me fazer buscar bem mais além do que eu achava ser meu limite.

Não posso me esquecer da Kelly, amiga, socorrista dos pós-graduandos atrasados. Kellynha obrigada por tudo, te adoro!

Agradeço aos meus amigos, que estiveram ao meu lado durante essa caminhada. Não apenas sendo companheiros na caminhada, mas incentivando, dando conselhos, fazendo rir, escutando desabafos, dando forças. Aos meus amigos eu devo um pedaço do meu ser, pois é neles que me escoro quando a caminhada está difícil. Muitos não sabem como, mas com um olhar, um abraço ou um bom dia me ajudaram a seguir.

À Karlinha e à Ericat por terem sido exemplos de amor à patologia.

Às minhas R2 Cris e Érica por me ensinarem o bê-a-bá da patovet. À Cris pela enquanto ensinava a clivar e à Érica por ter me ensinado à puncionar, mesmo usando um tomatinho.

Meu muito obrigado especial à minha grande amiga Nêssa por tudo, tudo, tudo! Por ter sido meu incentivo primário, minha tutora. Por sempre torcer por mim, pelos conselhos, apoio e até puxões de orelha. Ah... e pelas farras, claro! Minha amiga de alma obrigada, simplesmente, por existir na minha vida.

Aos amigos Anahi, Tati, Marta, Vini, Hudson por fazerem parte dessa caminhada.

A toda a equipe do LPV-UnB por estarem ao meu lado, me ensinado e me fazendo rir todos os dias. Ao Sr. Francisco pelo carinho, por sempre estar disponível e disposto a ajudar, e pelo “bom dia” sempre alegre e animador.

A todos do HVETão pela amizade, parceria e carinho.

A todos da UNIGRAN, Dourados-MS pelo acolhimento. Em especial aos professores Klaus e Fabi e alunos Fernando, Matheus e Jéssica, sem vocês esse trabalho seria impossível.

À CAPES pela bolsa concedida e ao CNPq pelo apoio financeiro ao projeto.

É impossível agradecer a todos. A vocês que fizeram ou fazem parte da minha vida, obrigada! Porquê de alguma maneira me ajudaram a ser quem eu sou.

SUMÁRIO

Lista de tabelas	ix
Lista de figuras	x
Lista de abreviaturas e siglas	xi
Resumo	xii
Abstract	xiii
Capítulo I	
Introdução	1
Referencial teórico	3
Objetivo geral	9
Objetivos específicos	9
Referências	10
Capítulo II	
Introdução	14
Material e métodos	16
Resultados	18
Discussão	20
Conclusões	31
Referências	32
Capítulo III	
Considerações finais	37
Anexo	39

LISTA DE TABELAS

QUADRO 1. Principais sinais clínicos e alterações histopatológicas hepáticas 27
em ovinos expostos ao sol (grupo A) e mantidos em baias (grupo B)
alimentados com braquiária durante o período experimental - Brasília, 2012.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1. Mecanismo de formação dos cristais na intoxicação por braquiária 5
(Santos Junior, 2008).
- FIGURA 2. Níveis séricos individuais de AST dos ovinos dos grupos A, B e C 28
durante o experimento - Brasília, 2012.
- FIGURA 3. Níveis séricos individuais de GGT dos ovinos dos grupos A, B e C 28
durante o experimento - Brasília, 2012.
- FIGURA 4. Níveis séricos médios de AST e GGT dos ovinos dos grupos A, B 28
e C durante o experimento - Brasília, 2012.
- FIGURA 5. Aorta de ovino do grupo A intoxicado por *Brachiaria* spp., 29
apresentando icterícia acentuada (Brasília 2012).
- FIGURA 6. Fígado de ovino do grupo A intoxicado por *Bracharia* spp. 29
apresentando hepatomegalia, coloração amarelada e vesícula biliar
acentuadamente distendida - Brasília, 2012.
- FIGURA 7. Fotomicrografia do fígado de ovino do grupo A intoxicado por 30
Bracharia spp. Descamação e necrose do epitélio biliar, imagem negativa de
cristais na luz de ducto biliar e infiltrado inflamatório mononuclear adjacente
(40x- HE) - Brasília, 2012.

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

APT	Apatia
AST	Aspartato aminotransferase
B	Biópsia
BUN	Nitrogênio da uréia sanguínea
CCD	Imagem negativa de cristais dentro de ductos biliares
CCM	Imagem negativa de cristais no citoplasma de macrófagos
EMG	Emagrecimento
FTF	Fotofobia
GGT	Gama glutamiltransferase
HDB	Hiperplasia de ductos biliares
HMO	Hiperemia de mucosa ocular
ICT	Icterícia
IMP	Infiltrado mononuclear periportal
IPM	Índice pluviométrico médio
ME	Macrófago com citoplasma espumoso
N	Necropsia
NIH	Necrose individual de hepatócito
SCO	Secreção ocular
TVT	Tumefação e vacuolização de hepatócitos

RESUMO

Foram utilizados 26 ovinos, entre 4 e 5 meses de idade, divididos em 3 grupos, provenientes de rebanhos que nunca tiveram contato com pastos de braquiária (naive). Dois grupos receberam *Brachiaria* spp no cocho diariamente *ad libitum*, sendo que um deles permaneceu em área com exposição solar (grupo A), e o outro, mantido em baias cobertas sem exposição ao sol (grupo B). O grupo controle (grupo C) foi também mantido em local com exposição solar, e alimentado com feno de *Cynodon* sp e capim *Pennisetum purpureum* triturado. A avaliação dos sinais clínicos era diária e amostras de sangue foram colhidas duas vezes por semana para dosagem de AST e GGT. Os animais que apresentaram sinais clínicos de intoxicação foram retirados do experimento. Realizou-se necropsia nos animais que morreram e biópsia hepática em todos no final do experimento. Três animais do grupo A adoeceram e 2 morreram. Um animal adoeceu e morreu do grupo B, e não houve alterações clínicas no C. Os principais sinais clínicos observados nos animais que adoeceram foram apatia, emagrecimento, fotofobia, hiperemia e secreção ocular e icterícia, sem sinais de fotossensibilização. Todos os animais expostos ao sol ou mantidos na sombra que adoeceram, apresentaram elevações dos níveis séricos de AST e GGT. A histopatologia das amostras de fígados dos ovinos apresentou tumefação e vacuolização de hepatócitos, necrose individual de hepatócitos, macrófagos espumosos com cristais birrefringentes intracitoplasmáticos e dentro de ductos biliares, e infiltrado mononuclear periportal. Amostras do capim não evidenciaram a presença de esporos do fungo *Pithomyces chartarum*. Estes resultados sugerem que a exposição solar não define a intoxicação, mas agrava a toxicidade da gramínea. Os mecanismos envolvidos na toxicidade pela gramínea ainda são pouco conhecidos e relacionados às saponinas, porém novas pesquisas precisam ser feitas para compreender melhor a patogenia da intoxicação por *Brachiaria* spp.

Palavras chaves: *Brachiaria* spp., intoxicação, ovinos, exposição solar, plantas tóxicas.

ABSTRACT

Twenty-six five months old lambs originated from herds with no previous contact with *Brachiaria* spp. pastures were divided into three groups. Two groups (A and B) were fed daily with fresh harvested *Brachiaria* spp. *ad libitum*. Group A was kept in an area with solar exposure and group B was kept in stalls sheltered from solar exposure. Control group (group C) was also kept under solar exposure, but fed with *Cynodon* sp grass hay and *Pennisetum purpureum* fresh grass. Evaluation of clinical signs was carried out daily and blood samples were collected twice a week to determine AST and GGT levels. Three lambs of group A presented clinical signs of *Brachiaria* spp. poisoning. Two sheep of this group died. One animal showed clinical signs and died in group B. The main clinical signs observed were apathy, weight loss, photophobia, conjunctivitis, ocular mucous discharge and jaundice. All animals at the end of the experiment were submitted to liver biopsy and died lambs were necropsied. Histopathological evaluation of liver samples evidenced swelling and vacuolization of hepatocytes, individual hepatocytes necrosis, crystal negative images within bile ducts and foamy macrophages, biliary duct hyperplasia and periportal mononuclear infiltration in poisoned sheep. GGT and AST serum levels were higher in group A and B. In group C neither clinical signs of intoxication nor significant elevation of serum AST and GGT were observed. Grass sampling did not showed presence of *Pithomyces chartarum* spores. These results suggest that sun exposure does not define intoxication, but exacerbates the toxicity of the grass. The mechanisms involved in toxicity grass are still poorly understood and related to the saponins, but new research is needed to better understand the pathogenesis of poisoning by *Brachiaria* spp.

Key-words: *Brachiaria* spp., poisoning, ovine, solar exposure, toxic plants.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

O rebanho mundial de ovinos está estimado em aproximadamente 1,09 bilhões de cabeças e, destes, cerca de 16,2 milhões ocupam solo brasileiro (FAO 2009). O Centro-Oeste demonstra rico crescimento e farto potencial produtor para ovinocultura, possuindo aproximadamente 1.035.914 cabeças (ANUALPEC 2007), sendo que no Distrito Federal se encontra o maior rebanho dessa região com grande tendência à expansão (Martins et al. 2003, Brum et al. 2007). Em geral, a produção pecuária brasileira tem as pastagens como base de sustentação. Diante do contexto de uma pecuária competitiva e empresarial, a pastagem assume papel de importância para o sucesso da atividade, sendo necessária a sua manutenção em condições adequadas de produção (Tuffi Santos et al. 2004).

O Brasil possui cerca de 845 milhões de hectares, dos quais 28% são considerados agricultáveis e, nesse contexto, as pastagens ocupam cerca de 177 milhões de hectares, ou seja, 73% da área do setor agropecuário (Ambiel 2007). A alta taxa de adaptabilidade em variadas condições de solo e clima, obtendo vantagens sobre outras espécies de forrageiras, fez com que a *Brachiaria* spp ocupasse espaços cada vez maiores, constituindo hoje a base da alimentação de uma considerável fração do rebanho brasileiro, especialmente no cerrado, onde as pastagens nativas possuem baixo rendimento. Segundo Tuffi Santos et al. (2004) existe cerca de 60 milhões de hectares de pastagem formada no cerrado brasileiro, desse total 51 milhões de hectares são de pastos formados com *Brachiaria* spp., sendo aproximadamente 30 milhões de hectares de *Brachiaria brizantha*, 15 milhões

de hectares de *Brachiaria decumbens* e 6 milhões de hectares de *Brachiaria humidicola* e outras braquiárias (Brum et al. 2007). Cabe, contudo, assinalar que é comum a observação do insucesso da ovinocultura, ora em propriedades que iniciam a criação de seus rebanhos sem as informações necessárias sobre esse tipo de pastagem, ora naquelas que introduzem animais novos na região, oriundos de pastos diferenciados que são livres de *Brachiaria* spp.

Em relação aos aspectos epidemiológicos e clínicos sobre a intoxicação por braquiária sabe-se que animais jovens são mais sensíveis que os adultos, sendo os ovinos considerada uma das espécies mais sensíveis entre os ruminantes. A *Brachiaria decumbens* spp. e a planta na fase de brotação são consideradas mais tóxicas. Animais de pelagem escura, em sua maioria, não exibem os sinais típicos de fotossensibilização hepatógena, comumente encontrada em ovinos de pelagem clara. No entanto, ocorrem quadros hepatotóxicos severos, com mortalidade de ovinos, independentemente da fotossensibilidade.

(Castro et al. 2007, Santos Junior et al. 2008, Mustafa 2009, Saturnino et al. 2010, Riet-Correa et al. 2011). Porém ainda existem lacunas sobre a intoxicação por *Brachiaria* spp. que precisam ser estudadas para melhor esclarecimento, entre elas saber se a resistência é adquirida ou genética e descrever melhor a patogênese dessa intoxicação, como determinar o mecanismo de detoxicação hepática da filoeritrina.

Apesar do extensivo estudo e da vasta literatura relacionada às plantas tóxicas do Brasil (Tokarnia et al. 2000), na região Centro-Oeste, especialmente no Distrito Federal (DF) e Goiás, pouco se conhece sobre a real importância das perdas provocadas por plantas tóxicas (Castro et al. 2007), seja pela morte de animais, redução na produção ou interferência na reprodução sob a forma de abortos, sendo desejável ter informações que possam contribuir para seu controle e profilaxia.

REFERENCIAL TEÓRICO

No Brasil são conhecidas mais de cem plantas tóxicas, sendo a *Brachiaria* spp. de ocorrência em todo o país, principalmente na região Centro-Oeste e de importância tanto para equinos quanto para ruminantes (Silva et al. 2006), em especial ovinos.

A *Brachiaria* spp. é conhecida no Brasil desde 1950, mas sua utilização em áreas de cerrado só ocorreu após 1970. Hoje, estima-se que no Brasil 85% das pastagens sejam formadas com essa gramínea (Ambiel 2007), e no cerrado brasileiro cerca de 51 milhões de hectares são cultivados, principalmente, por *B. brizantha*, *B. decumbens* e *B. humidicola* (Brum et al. 2007).

A introdução do gênero *Brachiaria* foi essencial para a expansão da pecuária no Centro-Oeste (Ambiel 2007), devido ao baixo custo de manutenção das pastagens, baixa exigência da planta quanto ao solo e clima, fácil difusão e alta produção de matéria seca. Essas características fizeram com que a *Brachiaria* spp. ocupasse espaços cada vez maiores nos cerrados, constituindo-se a mais importante fonte de alimentação do rebanho brasileiro (Castro et al. 2007).

Porém, perdas econômicas importantes são causadas em bovino, ovinos, caprinos e bubalinos por *Brachiaria* spp., principalmente no Sudoeste e Centro-Oeste brasileiros (Riet-Correa & Medeiros 2001). Essas perdas podem ser diretas ou indiretas. As perdas diretas estão relacionadas com os índices produtivos, por exemplo, morte e diminuição da produtividade animal. Já as indiretas incluem os custos de controlar as plantas tóxicas nas pastagens, medidas de manejo para evitar as intoxicações, redução do valor da forragem e do valor da terra, gastos com substituição de animais mortos e com diagnóstico e tratamento dos animais intoxicados (Riet-Correa & Medeiros 2001).

Inicialmente, inúmeros estudos associavam erroneamente a intoxicação por *Brachiaria* à esporidesmina, substância produzida pelo fungo *Pithomyces chartarum* presente nas pastagens, que sabidamente causa necrose hepática e acúmulo de substâncias fotossensíveis, provocando um quadro de fotossensibilização hepatógena. Contudo, no Brasil, a participação da esporidesmina não tem sido confirmada, pois análises recentes demonstram que mesmo na ausência de esporos

no pasto, alguns animais apresentam lesões de fotossensibilização (Collin et al. 1998, Cruz et al. 2001, Brum et al. 2007). É importante ressaltar que além da *Brachiaria* spp., outras plantas como *Panicum* spp., *Tribulu terrestris*, *Agave lecheguilla* e *Nartheceium ossifragum*, também causam fotossensibilização (Driemeier et al. 1998, Motta et al. 2000, Cruz et al. 2001).

Essas plantas contêm saponina esteroideal litogênica em sua composição. A hidrólise de saponinas, pelo trato digestivo dos animais, origina as saponinas epismilagenina e episarsasapogenina (Figura 1), que se ligam a íons de cálcio, formam sais insolúveis que precipitam no interior dos ductos biliares na forma de cristais (Driemeier et al. 1998, Lemos et al. 1998 Cruz et al. 2001, Brum et al. 2007, Santos et al. 2008, Santos Junior et al. 2008). Esses cristais podem causar inflamação e obstrução do sistema biliar, dificultando a metabolização e excreção da filioeritrina, produto da quebra da clorofila no rúmen, uma substância fotodinâmica que ao se acumular nos tecidos, provoca necrose dos hepatócitos periportais resultando em icterícia, fotossensibilização e hepatite (Lemos et al. 1996, 1997, 1998, Santos et al. 2008). Em áreas despigmentadas a filioeritrina reage com a luz ultravioleta, gerando a formação de radicais livres de oxigênio no citosol da célula, que causa ruptura de lisossomos, degranulação de mastócitos cutâneos, o que gera intensa inflamação e prurido caracterizando a fotodermatite (Sala et al. 2007), ou fotossensibilização hepatógena (Santos et al. 2008).

A fotossensibilização por insuficiência hepática pode resultar de dano primário do sistema biliar ou dano primário do parênquima hepático, podendo se observar lesões degenerativas ou degeneração gordurosa difusa (Motta et al. 2000). Existem três tipos de fotossensibilização em animais: tipo I ou primária, em que substâncias fotodinâmicas são ingeridas, absorvidas, atingindo a circulação sistêmica; tipo II, que refere à deficiência hereditária no metabolismo da porfirina; e tipo III, hepatotóxica ou hepatógena, que se dá por deficiência de metabólitos da clorofila, este geralmente associado à ingestão de *Brachiaria* spp (Sala et al. 2007, Santos et al. 2008).

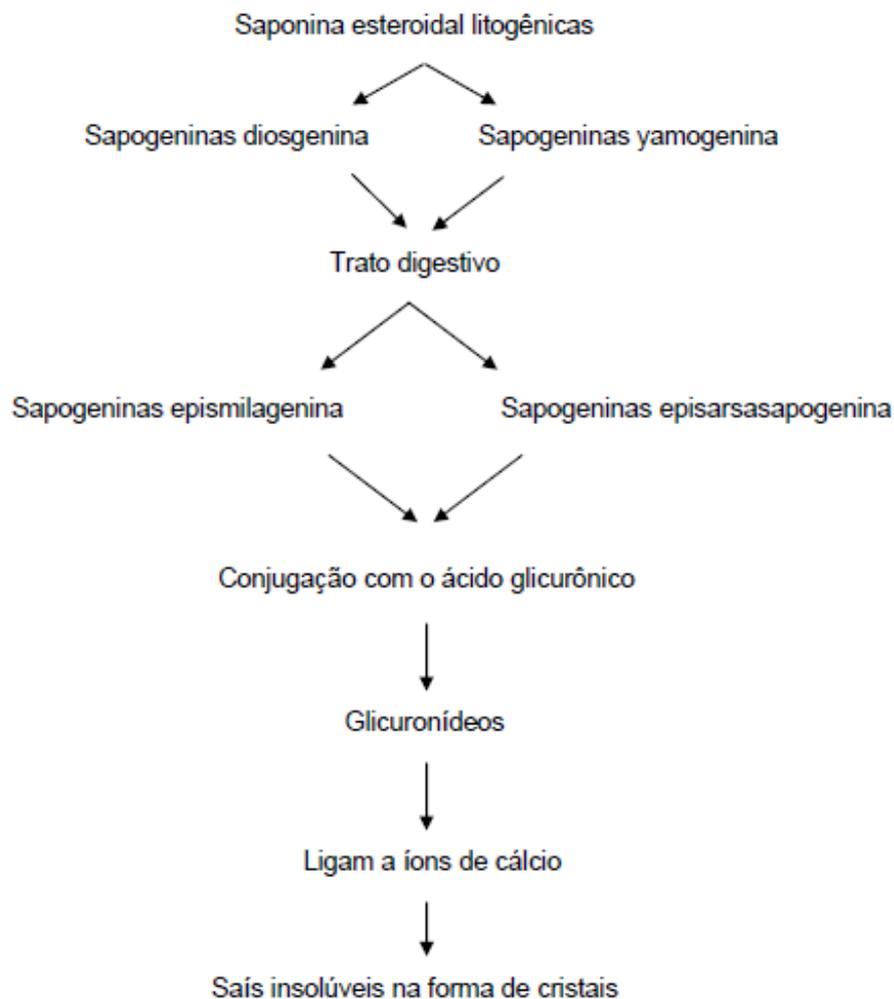


Figura 1. Mecanismo de formação dos cristais na intoxicação por braquiária (Santos Junior, 2008).

O efeito tóxico das plantas não é constante e uniforme, sendo afetado por diversos fatores como certas condições de administração ou épocas do ano (Tokarnia et al, 2000; Barbosa et al, 2006, Castro et al, 2007, 2009, Santos Junior et al, 2008, Mustafa 2009, Riet-Correa et al, 2011). No Centro-Oeste vários surtos vêm sendo descritos em ovinos no início do período chuvoso, porém os fatores envolvidos são pouco conhecidos (Castro et al, 2007, 2009). Em geral, a concentração de saponina é maior nas plantas em crescimento e períodos chuvosos, mas surtos ocorrem durante todo o ano, provavelmente por aumento da concentração de saponinas na planta por alguma causa ainda desconhecida (Santos Junior et al 2008, Saturnino et al. 2010, Riet-Correa et al., 2011). Sabe-se que o leite de vacas em pastagens de *Brachiaria* spp. pode intoxicar bezerros com menos de

30 dias de vida, sugerindo que haja quantidade tóxica de saponina presente (Riet-Correa & Medeiros 2001, Barbosa et al. 2006, Riet-Correa et al. 2006). A ingestão durante a fase de brotação da planta ou pastos fechados por mais de um mês está relacionada com maior toxicidade, acometendo animais de todas as idades (Riet-Correa et al. 2006). Os animais jovens demonstram maior sensibilidade que os adultos (Castro et al. 2007, 2009, Santos et al. 2008). Animais introduzidos pela primeira vez em pastagens de *Brachiaria* spp. são mais susceptíveis à intoxicação, não se sabe se a maior resistência é devido a algum mecanismo de adaptação ou se ao longo do tempo houve seleção natural de animais resistentes (Riet-Correa et al. 2006). Sugere-se, também, que búfalos e provavelmente alguns ovinos são resilientes, ou seja, animais intoxicados que apresentam lesões histológicas e elevação nos níveis de AST e GGT, mas não apresentam sinais clínicos (Riet-Correa et al. 2011).

Os principais sinais clínicos da fotossensibilização em ovinos são: emagrecimento, presença de secreção ocular e nasal serosa a purulenta, hiperemia ocular, edema e eritema cutâneo (principalmente orelha e barbeta), prurido, inquietação e preferência por áreas sombreadas. Macroscopicamente observa-se com frequência icterícia, edema subcutâneo generalizado, fígado aumentado, de coloração amarelo-cobre intensa e com padrão lobular evidenciado, vesícula biliar distendida e obstruída. Na superfície de corte dos linfonodos observam-se estriações brancacentas e paralelas da cortical à região medular. Na medular há presença de pequenos nódulos brancos com discreta protrusão (Driemeier et al. 1998, Tokarnia et al. 2000, Riet-Correa et al. 2006, Castro et al. 2007, Santos et al. 2008, Santos Junior et al. 2008, Saturnino et al. 2010, Riet-Correa et al. 2011).

Os animais intoxicados por *Brachiaria* spp. no Brasil apresentam, principalmente, macrófagos espumosos (“foam cells”) em grandes quantidade nos sinusóides hepáticos, cristais birrefringentes em ductos biliares e citoplasma de macrófagos espumosos, infiltrado mononuclear periductal e, tumefação e vacuolização de hepatócitos (Graydon et al 1991, Driemeier et al. 1998, 1999, Tokarnia et al. 2000, Brum et al. 2007, Riet-Correa et al. 2006). Não é observada área de necrose e fibroplasia, como descrito na lesão causada pela esporidesmina. Na avaliação hematológica observa-se aumento significativo das enzimas hepáticas aspartato aminotransferase (AST) e gamaglutamiltransferase (GGT), há, também,

aumento de creatinina e de nitrogênio da uréia sanguínea (BUN) (Noordin et al. 1989, Riet-Correa et al. 2006, Brum et al. 2007).

A profilaxia e o controle das intoxicações por plantas no Brasil têm-se realizado com base no conhecimento dos fatores associados às plantas, aos animais, ao ambiente e/ou ao manejo que determinam a ocorrência, a frequência e a distribuição geográfica das intoxicações (Riet-Correa & Medeiros 2001). Sabe-se que AST e GGT são enzimas que podem ser utilizadas como prova bioquímica na prevenção de mortes de ovinos intoxicados com braquiária, pois o aumento da atividade sérica dessas enzimas tem alta correlação com a morte dos animais e é observado antes ou concomitantemente da constatação dos sinais clínicos (Saturnino et al. 2010). Como essas medidas de controle têm resultados limitados, a continuidade de estudos nessa área é imprescindível para a diminuição ou, até mesmo, o fim das perdas econômicas na pecuária brasileira devido à intoxicação por plantas. As principais medidas preventivas poderão ser baseadas na seleção de animais resistentes ou resilientes e no desenvolvimento de espécies ou variedades de *Brachiaria* com concentrações menores de saponina (Riet-Correa et al. 2011).

A falta de informação de veterinários e produtores é, ainda, um dos principais fatores que contribuem para o crescimento do número de casos de intoxicação por plantas numa determinada região, essa falta de informação conduz a dúvidas e, muitas vezes, ao ceticismo de alguns produtores frente a um diagnóstico de intoxicação por plantas em um rebanho (Mustafa 2009).

O gênero *Brachiaria* spp é apontado como a alternativa ideal para formação de pastos no cerrado (Moraes et al. 2005), pois possui muitas vantagens para aproveitamento de solos de baixa produtividade, pela sua alta taxa de resistência e adaptabilidade em variadas condições de solo e clima, bom valor nutritivo e bom crescimento. Porém, pouco se conhece sobre adaptação e sensibilidade de animais, bem como, formas seguras de utilização de *Brachiaria* spp. Estudos visando conhecer e identificar falhas na utilização desse gênero de forrageira tende a favorecer diretamente os pequenos produtores, valorizar a produção de ovinos e, conseqüente, o bom desenvolvimento pecuário do cerrado.

Ovinos jovens demonstraram, experimentalmente, grande susceptibilidade à intoxicação por braquiária. Animais de pelagem negra, frequentemente, não exibem os sinais típicos de fotossensibilização hepatógena, comumente encontrada em

ovinos de pelagem clara. Entretanto, mesmos sem o surgimento das alterações cutâneas, ocorre sinais severos de intoxicação por braquiária e morte dos animais (Castro et al. 2007, Santos Junior et al. 2008, Riet-Correa et al. 2011). Por esta razão é de suma importância conhecer a influência da exposição solar na intoxicação por *Brachiaria* spp.

OBJETIVOS

Objetivo geral

- O objetivo deste trabalho consiste em determinar se a exposição solar de ovinos alimentados com *Brachiaria* spp, interfere na intoxicação provocada pela gramínea.

Objetivos específicos

- Avaliar os índices de morbidade, mortalidade e letalidade da intoxicação por braquiária em ovinos expostos ou não ao sol;
- Caracterizar a evolução clínica e os principais sinais clínicos da intoxicação apresentados pelos animais intoxicados;
- Avaliar os níveis séricos das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e gama-glutamilttransferase (GGT), nos ovinos intoxicados;
- Quantificar os níveis de esporos de *Pithomyces chartarum* das amostras de pastagem coletadas;
- Relacionar os achados clínico-patológicos e epidemiológicos com a ocorrência da intoxicação em ovinos dos grupos expostos ou protegidos do sol.

REFERÊNCIAS

- AMBIEL, A. C. Avaliação da variabilidade genética e agrupamento de acessos e cultivares de *Brachiaria* por marcadores de RAPD. Dissertação de mestrado. UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista. Presidente Prudente, SP. 2007.
- ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA (ANUALPEC). **FNP Consultória e Comércio**, São Paulo, Brasil. 2007. 332p.
- BARBOSA, J.D., OLIVEIRA, C.M.C., TOKARNIA, C.H., PEIXOTO, P.V. Fotossensibilização hepatógena em eqüinos pela ingestão de *Brachiaria humidicola* (Gramineae) no Estado do Pará. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 26, p.147-153, 2006.
- BRUM, K.B.; HARAGUCHI, M.; LEMOS R.A.A.; RIET-CORREA, F.; FIORAVANTI, M.C.S. Crystal-associated cholangiopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens* containing the saponin protodioscin. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 27, p.39-42, 2007.
- CASTRO, M.B., MOSCARDINI, A.R.C., RECKZIEGEL, G. C., NOVAES, E. P. F., MUSTAFA, V. S., PALUDO, G.R., BORGES, J.R.J., RIET-CORREA, F. Susceptibilidade de ovinos a intoxicação por *Brachiaria decumbens*. In: V Congresso Latinoamericano de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos. Buenos Aires, Argentina. **Abstracts**. 2007.
- CASTRO, M.B., SANTOS Jr., H.L.; MUSTAFA, V.S., GRACINDO, C.V., MOSCARDINI, A.C.R., LOUVANDINI, H., PALUDO, G.R., BORGES, J.R.J., HARAGUCHI, M., FERREIRA, M.B., RIET-CORREA, F. *Brachiaria* spp. poisoning in sheep in Brazil: Experimental and epidemiological findings. In: 8th International Symposium on Poisonous Plants. João Pessoa, Paraíba, Brazil. **Abstracts**. p. 12, 2009.
- COLLIN, R.G., ODRIOZOLA, E., TOWERS, N.R. Sporidesmin production by *Pithomyces chartarum* isolates from Australia, Brazil, New Zealand and Uruguay. **Mycol. Res.** v, 102, p. 163-166, 1998.
- CRUZ, C., DRIEMEIER, D., PIRES, V.S., SCHENKEL, E.P. Experimentally induced cholangiohepatopathy by dosing sheep with fractionated extracts from *Brachiaria decumbens*. **J. Vet. Diagn. Invest.**, v.13, n. 2, p.170-172, 2001.
- DRIEMEIER, D., BARROS, S.S., PEIXOTO, P.V., TOKARNIA, C.H., DÖBEREINER, J., BRITO M.F. Estudo histológico, histoquímico e ultra-estrutural de fígados e

- linfonodos de bovinos com presença de macrófagos espumosos (“foam cells”). **Pesq. Vet. Bras.**, v.18, p.29-34.1998.
- DRIEMEIER, D., DÖBEREINER, J., PEIXOTO, P.V., BRITO, M.F. Relação entre macrófagos espumosos (“foam cells”) no fígado de bovinos e ingestão de *Brachiaria* spp. no Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, v.19, p.79-83, 1999.
- FAO, Food and Agriculture Organization of United Nations. FAOSTAT. 2009. Disponível online em: <http://faostat.fao.org/site/573/DesktopDefault>. Acesso em: 07/06/2010
- GRAYDON, R.I., HAMID, H., ZAHARI, P. Photosensitization and crystal associated cholangiohepatopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens*. **Aust. Vet. J.**, v. 68, p.234-236, 1991.
- LEMOS, R.A.A., FERREIRA, L.C.L., SILVA, S.M., NAKAZATO, L., SALVADOR, S.C. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em ovinos em pastagem com *Brachiaria decumbens*. **Ciência Rural**, v.26, p.109-113, 1996.
- LEMOS, R.A.A., SALVADOR, S.C., NAKAZATO, L. Photosensitization and crystal associated cholangiohepatopathy in cattle grazing *Brachiaria decumbens* in Brazil. **Vet. Hum. Toxicol.**, v.39, p. 376-377, 1997.
- LEMOS, R.A.A., OLIVEIRA, V.A., HERRERO Jr, G.O., SILVEIRA, A.C., PORFÍRIO, L.C. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em caprinos mantidos sob pastagens de *Brachiaria decumbens* no Mato Grosso do Sul. **Ciência rural**, v. 28, p.507-510, 1998.
- MARTINS R. D., MCMANUS C., CARVALHÊDO A. S., BORGES H. S., SILVA A. E. D F., SANTOS N. R. Avaliação da sazonalidade reprodutiva de carneiros santa inês criados no Distrito Federal. **R. Bras. Zootec.** v.32, n.6, p.1594-1603, 2003.
- MORAES, E.H.B.K., PAULINO, M.F., ZERVOUDAKIS, J.T., VALADARES FILHO, S.C., MORAES, K.A.K. Avaliação Qualitativa da Pastagem Diferida de *Brachiaria decumbens* sStapf., Sob Pastejo, no Período da Seca, Por Intermédio de Três Métodos de Amostragem. **R. Bras. Zootec.** v. 34, n. 1, p. 30-35, 2005.
- MOTTA, A. C.; RIVERO, G. Riet-Correa; SCHILD, A. L.; RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. C.; FERREIRA, J. L. Fotossensibilização Hepatógena Em Bovinos No Sul Do Rio Grande Do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 1, p. 143-149, 2000.

- MUSTAFA, V. **Caracterização da intoxicação natural por *Brachiaria* spp em ovinos no Brasil Central**. Brasília: UnB, FAV, 2009. 71 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal)
- NOORDIN, M.M., SALAM ABDULLAH, A., RAJION, M.A. Experimental *Brachiaria decumbens* toxicity in cattle. **Vet. Res. Com.**, v. 13, n. 6, p. 491-494, 1989.
- RIET-CORREA F., MEDEIROS R.M.T. Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. **Pesq. Vet. Bras.**, v.21, p.38-42, 2001.
- RIET-CORREA F., MEDEIROS R.M.T., DANTAS A.F. **Plantas tóxicas da Paraíba**. SEBRAE, João Pessoa. 2006. 54p
- RIET-CORREA, B., CASTRO M.B., LEMOS R.A.A., RIET-CORREA G., MUSTAFA V. RIET-CORREA F. *Brachiaria* spp. poisoning of ruminants in Brazil. **Pesq. Vet. Bras.**,v. 31, n. 3, p. 183-192, 2011.
- RISSI, D.R., RECH, R.R., PIÉREZAN, F., GABRIEL, A.L., TROST, M.E., BRUM, J.S.,KOMMERS, G.D., BARROS, C.S.L. Intoxicações por plantas e micotoxinas associadas a plantas em bovinos no Rio Grande do Sul:461 casos. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 27, n. 7, p. 261-268, 2007.
- SALA, R. V.; CREMASCO, A. C. M.; CALDEIRA, C. P.; BANDARRA, M. B., NERY, R.; SANCHES, C. D.C.; PINCZOWSKI, P.; THOMÉ, H. E.; MOURA, V. M. B. D.; BANDARRA, E. P. Fotossensibilização Hepatógena Em Bovinos Associada À Ingestão De *Brachiaria brizantha*. UFPEL, 2007. Disponível em: www.ufpel.edu.br/fvet/oncovet/PEaulas20081/PE03_Fotossens.pdf. Acesso em: 12/10/2010.
- SANTOS, J.C.A., RIET-CORREA, F., SIMÕES, S.V., BARROS, C.S.L. Patogênese, sinais clínicos e patologia das doenças causadas por plantas hepatotóxicas em ruminantes e eqüinos no Brasil. **Pesq.Vet. Bras.**, v.28, n. 1, p.1-14, 2008.
- SANTOS JUNIOR H.L. MOSCARDINI A. R.C., PALUDO G., RIET-CORREA F., BORGES J.R.J., CASTRO M.B. **Estudo da toxicidade de diferentes estágios de crescimento da *Brachiaria decumbens* em ovinos**. Anais Endivet, Campo Grande, MS, 2008. p. 135-136.
- SATURNINO, K.C., MARIANI, T.M., BARBOSA-FERREIRA, M., BRUM, K.B., FERNANDES, C.E.S., LEMOS, R.A.A. Intoxicação experimental por *Brachiaria decumbens* em ovinos confinados. **Pesq. Vet. Bras.** v. 30, n. 3, p. 195-202, 2010

- SILVA, D. M., RIET-CORREA, F., MEDEIROS, R.M.T., OLIVEIRA, O.F. Plantas tóxicas para ruminantes e eqüídeos no Seridó Ocidental e Oriental do Rio Grande do Norte. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 26, n. 4, p. 223-236, 2006.
- TOKARNIA, C.H., DÖBEREINER, J & PEIXOTO, P.V. **Plantas Tóxicas do Brasil**. Helianthus: Rio de Janeiro, 2000, 310 p.
- TUFFI SANTOS, L.D., SANTOS, I.C., OLIVEIRA, C.H., SANTOS, M.V., FERREIRA, F.A., QUEIROS, D.S. Levantamento fitossociológico em pastagens degradadas sob condições de várzea. **Planta daninha**. Viçosa-MG, v. 22, n. 3, p. 343-349, 2004.

CAPÍTULO II

INFLUÊNCIA DA EXPOSIÇÃO SOLAR NA INTOXICAÇÃO POR *Brachiaria* spp EM OVINOS

INTRODUÇÃO

A intoxicação por braquiária é um dos entraves à expansão da ovinocultura nacional nas áreas de cerrado. Em geral, a produção pecuária brasileira tem nas pastagens de braquiária sua principal base de sustentação. Estima-se que haja cerca de 60 milhões de hectares de pastagens formadas no Cerrado brasileiro, desses, 51 milhões são de *Brachiaria* spp (Tuffi Santos et al. 2004).

Sabe-se atualmente que ovinos, especialmente jovens, têm maior susceptibilidade à intoxicação por *Brachiaria* spp do que bovinos (Hasiah et al. 2000; Riet-Correa & Mendez 2007). Animais de pelagem negra, em sua maioria, não exibem os sinais típicos de fotossensibilização hepatógena, comumente encontrada em ovinos de pelagem clara. Entretanto, mesmos sem o surgimento das alterações cutâneas, ocorre sinais severos de intoxicação por braquiária e morte dos animais (Castro et al. 2007; Santos Júnior et al. 2008).

Dentre os sinais clínicos da intoxicação pela braquiária, a fotossensibilização é uma das manifestações mais conhecidas (Lemos et al. 1996 e 1997, Tokarnia et al. 2000, Brum et al. 2007). A fotossensibilização é um

aumento da sensibilidade à luz ultra-violeta. Onde radicais livres produzidos por reações fotodinâmicas podem lesar células e membranas lisossomais (Osweiler 1998). O quadro clínico inclui edema e dermatite da face, orelhas e pálpebras, conjuntivite, descarga ocular, cegueira e aumento nos níveis séricos de AST e GGT (Lemos et al. 1996). Entretanto, nas formas mais agudas da doença, a maioria dos ovinos adoce e morre sem exibir alterações cutâneas de fotossensibilização (Santos Júnior et al. 2008). Estes achados sugerem a intoxicação por braquiária, especialmente se considerada a ação hepatotóxica das saponinas presentes na gramínea, independente da fotossensibilização. Essa observação, até o momento, ainda não foi comprovada, sendo necessário determinar até que ponto a exposição solar realmente interfere no curso da intoxicação por braquiária em ovinos.

Ainda existem muitas lacunas no conhecimento sobre a intoxicação por *Brachiaria* spp. que precisam ser estudadas para melhor esclarecimento, entre elas estão questões como os principais fatores epidemiológicos que interagem em surtos de intoxicação potencializando a ocorrência do mesmo.

O objetivo deste trabalho consistiu em determinar a influência da exposição solar em ovinos alimentados com *Brachiaria* spp, no desenvolvimento da intoxicação provocada pela ingestão da gramínea.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados vinte e seis ovinos mestiços da raça Santa Inês, provenientes de plantéis que nunca tiveram contato com pastos formados por braquiária. Os animais eram de pele pigmentada e pelagem variando de castanha a negra, pesavam entre 13 e 26 kg, com 3 a 4 meses de idade, sendo 13 machos e 13 fêmeas, separados randomicamente em 3 grupos. O grupo controle (grupo C, n=8) e grupo sol (grupo A, n=9) foram mantidos em área descoberta contendo uma pequena casa de madeira, medindo 1,5 x 2,0 x 2,0 m, para proteção de eventuais chuvas e abrigo noturno. Os ovinos do grupo sombra (grupo B, n=9) permaneceram em baía de alvenaria fechada, coberta e com boa ventilação durante todo o experimento, protegidos da exposição solar. Os animais foram identificados com brinco, aclimatizados e everminados com cloridrato de levamisol 8% antes do início do experimento (1ml/10kg - Levamic®Microsules).

O estudo ocorreu no período de janeiro a março de 2010 no Hospital Veterinário do Centro Universitário da Grande Dourados - UNIGRAN em Dourados - MS. Os dois grupos testes (grupos A e B) receberam capim fresco cortado diariamente, proveniente de piquetes de *Brachiaria* spp em fase de brotação durante o período chuvoso, o qual teve índice pluviométrico médio (IPM) de 153 mm (Embrapa). Todos os grupos receberam alimentação em cochos, foram suplementados com 200g/dia de ração comercial para ovinos e receberam sal mineral e água *ad libitum*. O grupo C recebeu como forrageira apenas feno de capim coast-cross (*Cynodon* sp.) e capim Elefante (*Pennisetum purpureum*) picado.

Diariamente os animais foram submetidos ao exame clínico para verificação das mucosas, do apetite e sinais de fotossensibilização (eritema periocular, edema de orelha e face) ou outros sinais de intoxicação pela gramínea. O comportamento também foi observado, caso os ovinos procurassem áreas sombreada para se protegerem do sol, demonstrando fotofobia (Saturnino et al. 2010).

Amostras de sangue por punção da veia jugular foram colhidas duas vezes por semana, para mensuração dos níveis séricos das enzimas aspartato

aminotransferase (AST) e gama glutamiltransferase (GGT), utilizando-se kits comerciais e a leitura realizada com analisador bioquímico semi-automático (Santos Júnior et al. 2008).

Os ovinos que apresentaram sinais de intoxicação foram imediatamente retirados do experimento para evitar agravamento e morte. Estes animais foram submetidos, na seqüência, à biópsia hepática (Santos Júnior et al. 2008, Néspoli et al. 2010) assim como todos ovinos que não adoeceram ao final do experimento. Os que eventualmente morreram, foram necropsiados, sendo os fragmentos de órgãos e biópsias hepáticas fixados em formol tamponado 10%, processados rotineiramente para inclusão em parafina, cortados a cinco micrômetros, corados com hematoxilina-eosina e analisados histologicamente.

Amostras das pastagens foram colhidas a cada 15 dias, totalizando quatro coletas para contagem de esporos de *Pithomyces chartarum* utilizando o método de lavagem (“wash method”) em amostras frescas da gramínea (Tokarnia et al. 1979).

A análise estatística foi feita com o programa PrismGraph 5.0. A comparação das médias da atividade enzimática de AST e GGT utilizando-se o método ANOVA e teste de Tukey. As freqüências da mortalidade e letalidade foram comparadas com o teste exato de Fisher.

RESULTADOS

Quatro ovinos apresentaram sinais clínicos da intoxicação por braquiária, ocorrendo a morte de 3 dos 18 ovinos que consumiram a planta, correspondendo a 22.2% de morbidade e 75% de letalidade. Desse total, três animais do grupo A adoeceram e dois morreram. Um animal adoeceu e morreu do grupo B, e não houve alterações clínicas nos ovinos do grupo C. Não foram observadas diferenças significativas entre mortalidade e letalidade nos grupos A e B ($p \geq 0,05$).

O primeiro animal (A3) a adoecer apresentou sinais de intoxicação por braquiária (icterícia, hiperemia e secreção serosa na mucosa ocular) aos 7 dias, e morte aos 23 dias após o início do experimento. O segundo (B4), único ovino do grupo B a adoecer, apresentou os mesmo sinais aos 41 dias de experimento e morte 2 dias após. O terceiro animal (A5) demonstrou sinais clínicos da intoxicação aos 43 dias e morte no 52º dia de experimento. Já o ovino que não morreu (A6) apresentou sinais da intoxicação aos 48 dias do período experimental. No Quadro 1 estão os principais sinais clínicos observados nos ovinos que adoeceram: hiperemia e secreção ocular mucóide (100%), icterícia (100%), apatia (75%), emagrecimento (25%) e fotofobia (50%), com evolução de 2 a 8 dias. Alterações de pele sugestivas de fotossensibilização, como eritema, edema e alopecia não foram observadas nos ovinos dos grupos A e B. Os ovinos do grupo C não apresentaram alterações clínicas, morfológicas e bioquímicas durante o experimento.

Todos os animais dos grupos A e B que adoeceram, apresentaram elevações dos níveis séricos de AST e GGT (Figura 2 e Figura 3). Porém, outros dois ovinos do grupo B, e que não apresentaram sinais clínicos da intoxicação, também apresentaram elevações significativas da enzima GGT (Figura 3). Os ovinos iniciaram discreta elevação dos níveis séricos de GGT aos 7 dias, e de AST aos 18 dias após o início do experimento. Aumentos pronunciados das atividades séricas de GGT e AST ocorreram aos 14 e aos 21 dias respectivamente no primeiro ovino que adoeceu e morreu.

O grupo A apresentou níveis séricos médios da enzima AST (Figura 4) significativamente maiores que dos grupos B e C ($p \leq 0,05$). A atividade enzimática média de GGT (Figura 4) do grupo A foi maior ($p \leq 0,05$) que dos grupos B e C. Os animais do grupo 2 também apresentaram níveis maiores de GGT ($p \leq 0,05$) em comparação ao grupo C.

Nos três ovinos que morreram e foram necropsiados observaram-se como principais alterações, diferentes graus de icterícia (Figura 5), sendo um acentuado (grupo A) e dois moderados (grupos A e B). A vesícula biliar distendida e repleta, hepatomegalia com coloração difusamente amarelo-cobre e padrão lobular evidenciado estiveram presentes nos três casos (Figura 6).

O exame histopatológico do fígado das amostras de necropsias e de biópsias dos ovinos do experimento (Quadro 1) demonstrou a tumefação e vacuolização, e necrose individual de hepatócitos, em 50% dos animais doentes, e em 11,1% do total de ovinos alimentados com braquiária.

Macrófagos espumosos no interior dos sinusóides e periportais, e imagens negativas de cristais aciformes no citoplasma de macrófagos, foram observados em 38,9% e 33,3% respectivamente do total de animais que receberam a gramínea e em todos os ovinos intoxicados.

A hiperplasia de ductos biliares e cristais refringentes oticamente ativos na luz de ductos biliares (Figura 7) estiveram presentes em 50% e 75% dos animais doentes respectivamente, correspondendo a 11,1% e 16,6% do total de ovinos que receberam braquiária.

Infiltrado mononuclear periportal com predomínio de linfócitos e alguns plasmócitos foi observado em 75% dos ovinos intoxicados e em 77,8% do total de animais alimentados com o capim. Esta alteração também foi encontrada no fígado de 62% dos ovinos do grupo controle, sendo o único achado histopatológico nestes animais.

Todas as amostras do capim colhidas não evidenciaram a presença de esporos do fungo *Pithomyces chartarum*.

DISCUSSÃO

A braquiária, mesmo sendo a forrageira que permitiu a expansão da pecuária para o Brasil Central, ainda é um grande entrave para ovinocultura brasileira, devido à sua toxicidade. Vários aspectos epidemiológicos e do mecanismo de intoxicação pela gramínea ainda são desconhecidos. A fotossensibilização hepatógena é um dos sinais clínicos mais característicos associados à toxicidade pela braquiária. Entretanto, ocorre a morte de animais pigmentados, ou em casos hiperagudos da doença, com ausência de lesões cutâneas que indiquem sinais de fotossensibilidade.

A importância da exposição solar na patogenia dessa intoxicação ainda não é totalmente esclarecida, e ainda é incerto se ovinos não expostos ao sol também são afetados pela toxicidade da *Brachiaria* spp.

Os ovinos alimentados ao cocho com braquiária apresentaram taxas de morbidade e de letalidade total de 22,2% e de 75,0%, respectivamente. Quando comparada a taxa de mortalidade entre os grupos experimentais, observou-se que o grupo A apresentou morbidade três vezes superior (33%) ao grupo B (11%), e letalidade variando de 66,6 a 100% respectivamente.

O índice de morbidade total foi semelhante ao observado em 25% dos ovinos intoxicados naturalmente pela gramínea no Rio Grande do Norte e Mato Grosso do Sul (Silva et al. 2006, Brum et al. 2007) e 23,2% no Brasil Central (Mustafa 2009). Entretanto em condições experimentais foram observadas taxas de morbidade de 50% (Castro et al. 2007) e 42,8% (Santos Júnior et al. 2008) no Distrito Federal e 45,8% (Saturnino et al. 2010) em Mato Grosso do Sul.

A taxa de letalidade total se equiparou aos 75% observada na intoxicação experimental de ovinos em pasto de *B. decumbens* no Distrito Federal (Santos Júnior et al. 2008) e aos 76,9% de um surto descrito em ovinos no Pará (Albernaz et al. 2010). Porém, em condições semelhantes, ocorreu letalidade de 100% dos animais no Mato Grosso do Sul (Saturnino et al. 2010), 30% no Distrito Federal (Castro et al. 2007) e de 88,3% em surtos naturais no Brasil Central (Mustafa 2009). A letalidade elevada na intoxicação por *Brachiaria* spp. em ovinos é um achado frequente. A espécie ovina é

considerada uma das mais susceptíveis à intoxicação por braquiária dentre os ruminantes (Khairi et al. 2000), o que poderia justificar o número maior de mortes entre os animais que adoeceram.

A taxa de morbidade do grupo A foi superior ao grupo B. Entretanto, a observação mais importante foi a intoxicação e morte de um dos ovinos albergados em baia fechada, protegido da exposição solar. Isto demonstra o potencial tóxico da gramínea independente do animal estar exposto ou não ao sol. Entretanto, é importante ressaltar, que apesar das evidentes discrepâncias nas frequências de morbidade entre os dois grupos, não foi possível determinar diferenças significativas entre eles.

O surgimento dos sinais clínicos da intoxicação por braquiária nos ovinos variou de 7 a 38 dias. O menor e maior período foi observado no grupo A, e para o grupo B, o animal adoeceu 27 dias após o início do experimento. Ambos os grupos tiveram o aparecimento dos sinais clínicos semelhante ao período de 7 a 62 dias observado na intoxicação experimental de ovinos por braquiária (Khairi et al. 2000, Santos Jr. 2008, Saturnino et al. 2010), apesar deste período poder ser muito variável em surtos naturais no Brasil Central, e se estender além dos 120 dias (Mustafa 2009). A grande variação de tempo para o surgimento dos sinais clínicos nos animais pode ser atribuída a diversos fatores, entre eles, a susceptibilidade/ resistência dos animais, a variação na toxicidade da gramínea.

Hiperemia e secreção biocular de mucosa ocular, e icterícia foram sinais clínicos presentes em todos os animais que adoeceram e vem sendo descrita com frequência em intoxicações naturais e experimentais em ovinos pela braquiária (Khairi et al. 2000, Santos Jr. 2008, Mustafa 2009, Castro et al. 2011). A patogênese da hiperemia e descarga ocular na intoxicação ainda não é conhecida, mas suspeita-se estar relacionada ao aumento da sensibilidade local a radiação solar por deposição da filoterina (Tokarnia 2000, Lemos et al. 2002, Santos Junior et al. 2008). Entretanto, estes sinais clínicos também estiveram presentes no animal que adoeceu e permaneceu todo período experimental em baia, protegido da exposição solar. Assim, é possível especular que estas alterações não sejam decorrentes à fotossensibilização, mas sim devido algum distúrbio sistêmico associado à intoxicação.

A icterícia é frequentemente descrita como sinal clínico importante na intoxicação por braquiária em ruminantes (Graydon et al. 1991, Lemos et al. 1998, Lemos et al. 2002, Santos Junior et al. 2008, Mustafa 2009, Saturnino et al. 2010, Riet-Correa et al. 2011). A alta incidência de icterícia encontrada nos animais deste experimento possivelmente esteja associada à colestase causada pela obstrução das vias biliares por cristais de saponina obstruindo os ductos biliares (Driemeier et al. 1998, Lemos et al. 1998, Cruz et al. 2001, Brum et al. 2007, Santos et al. 2008, Santos Junior et al. 2008, Riet-Correa et al. 2011).

Apatia é um sinal clínico observado em animais recém introduzidos e intoxicados por braquiária (Graydon et al. 1991, Fagliari et al. 1993, Cruz et al. 2001, Seitz et al. 2004, Brum et al. 2007, Mendonça et al. 2008, Castro et al. 2011, Riet-Correa et al. 2011). Essa alteração, observada em vários graus nos três animais necropsiados, possivelmente esteja relacionada com a lesão hepática produzida pela ingestão da gramínea.

Emagrecimento e fotofobia só foram observados nos animais intoxicados do grupo A. Os mecanismos da fotofobia ainda são desconhecidos (Tokarnia 2000, Lemos et al. 2002), mas, provavelmente, estão relacionados ao aumento da sensibilidade local à radiação solar por deposição da filoeitrina (Santos Junior 2008). Já o emagrecimento possivelmente ocorra em consequência da apatia e anorexia ou por alguma interferência no metabolismo hepático.

No presente estudo, nenhum animal apresentou lesões de pele caracterizadas por edema de face e orelhas, associadas a intoxicação pela gramínea. A queda de pelo, erosões e ulcerações cutâneas são lesões que caracterizam a fotossensibilização hepatógena por retenção hepática da filoeitrina (Stegelmeier 2002, Pimentel et al. 2007) e são descritas em ovinos intoxicados por *Brachiaria* spp (Fagliari et al. 1993, Lemos et al. 1996, Cruz et al. 2001, Seitz et al. 2004, Brum et al. 2007, Mendonça et al. 2008, Santos et al. 2008). Este fato pode estar relacionado à forma subclínica da intoxicação (Santos Júnior et al. 2008), à resiliência animal (Riet-Correa et al. 2011) ou pelo fato de todos os ovinos serem pigmentados e de pelagem escura (Graydon et al. 1991, Santos Júnior et al. 2008, Mustafa 2009, Saturnino et al. 2010).

O aumento de AST e GGT séricos em todos os animais alimentados com *Brachiaria* spp., independente da exposição ou não ao sol, demonstraram

a hepatotoxicidade da gramínea fornecida. A enzima AST é encontrada no citoplasma e mitocôndria de hepatócitos. Em lesões hepáticas, agudas e crônicas, os níveis desta enzima na circulação tendem a aumentar (Kaneko et al. 1997). A enzima GGT está presente na membrana plasmática de células do epitélio dos ductos biliares e seus níveis elevados são observados em lesões do sistema hepatobiliar associadas à colestase (Kaneko et al. 1997), justificando a icterícia nos quatro animais intoxicados.

As elevações de AST e GGT ocorreram em maioria no grupo A (33,4%), coincidindo, com o grupo mais afetado pela intoxicação, porém dois ovinos do grupo B (B2 e B7), que não demonstraram sinais clínicos, também apresentaram elevações significativas de GGT no período final do experimento.

O ovino B2 apresentou elevação de AST e GGT sem demonstrar qualquer lesão hepática significativa. Já o animal B7, além das elevações enzimáticas, foram encontrados macrófagos espumosos nos sinusóides e imagens de cristais no citoplasma de alguns macrófagos no fragmento de fígado, semelhantemente aos animais intoxicados. Isso sugere que ovinos alimentados com braquiária apresentam aumento nos níveis séricos de AST e GGT, no entanto, sem refletir o surgimento da intoxicação. Experimentalmente foi demonstrado que animais provenientes de rebanhos previamente adaptados, mantidos há vários anos ao pastejo em piquetes de *B. decumbens*, demonstram-se mais resistentes à intoxicação por braquiária que ovinos que nunca tiveram contato (naive) com a gramínea (Castro et al. 2007, Santos Jr. 2008). Foi demonstrado que apesar dos ovinos adaptados apresentarem grandes elevações enzimáticas séricas de AST e GGT, apenas 10% dos animais adoeceram, enquanto grupo naive apresentou 90% de morbidade (Castro et al. 2007). Estas observações sugerem a existência de resiliência e resistência à intoxicação por braquiária em ovinos, cujas naturezas adquirida ou hereditária, ainda não foram determinadas (Castro et al. 2007, Castro et al. 2011, Riet-Correa et al 2011).

Os níveis médios séricos das enzimas AST e GGT apresentaram-se mais elevados no grupo A, entretanto seus aumentos também ocorreram em animais do grupo B. Aparentemente a incidência solar parece agravar a intoxicação por braquiária nos animais, apesar de não ser fator decisivo, uma

vez que também ocorre o aumento enzimático e a morte de ovinos protegidos do sol.

Nos animais necropsiados (16,7%), os achados mais importantes foram a icterícia generalizada (Saturnino et al. 2010, Castro et al. 2011) e a hepatomegalia, com distensão da vesícula biliar e o fígado de coloração amarelada (Lemos et al, 1998, Lemos et al. 2002, Riet-Correa et al. 2002). A icterícia, observada também no exame clínico, e reflete a lesão hepatóxica produzida pela ingestão de braquiária, confirmada pelos aumentos séricos de AST e GGT. O principal mecanismo apontado para o surgimento destas alterações é o extravasamento de pigmentos biliares oriundos da obstrução dos ductos biliares por cristais formados pela conjugação da saponina com cálcio (Cheeke 1995, Santos et al. 2008).

As alterações histopatológicas dos animais necropsiados e das biópsias hepáticas observadas neste estudo são semelhantes com descrições anteriores de ovinos intoxicados por braquiária (Graydon et al. 1991, Lemos et al. 1996, Driemeier et al. 1998, Cruz et al. 2000, Tokarnia et al. 2000, Castro et al. 2007, Santos Junior et al. 2008, Saturnino et al. 2010). Macrófagos com citoplasma espumosos, imagens negativas de cristais intracitoplasmáticos em macrófagos nos sinusóides hepáticos e peri-portais, e cristais dentro de ductos biliares foram alterações histológicas mais observadas nos animais dos grupos A e B. Estas alterações estão entre as mais consistentes com a ação hepatotóxica de plantas que contém saponinas (Smith & Miles 1993, Cruz et al. 2000). Os cristais observados no fígado dos animais intoxicados são formados pela ligação da saponina litogênica, presente na *Brachiaria* spp, ao ácido glicurônico, formando glicuronídeos que se ligam ao sais de cálcio que resultam em cristais insolúveis (Cheeke 1995, Cruz et al. 2001, Driemeier et al. 2002).

Infiltrado linfocítico peri-portal foi outro achado frequente nos animais do grupo A (78%), possivelmente associada a ação irritante e obstrutiva que os cristais de saponina podem causar ao sistema biliar (Santos et al. 2008). Esse achado, porém, pode ser inespecífico, já que também foi observado em 62% dos animais do grupo C. A presença de plasmócitos próximo às vias biliares é considerada um mecanismo de defesa hepático, inespecífico (McGavin & Zachary 2012).

Tumefação e vacuolização hepatocelular (11,1%), necrose individual aleatória de hepatócitos (11,1%) e hiperplasia de ductos biliares (16,7%) foram achados microscópicos ocasionais. Hiperplasia ductal é considerada uma resposta comum a diversas hepatopatias e seu mecanismo ainda é desconhecido (Cullen 2009).

A ausência de esporos de *P. chartarum* nas amostras de capim coletadas, associada às alterações histopatológicas observadas nos animais alimentados com braquiária, mais uma vez reforça que a saponina esteroideal litogênica, constituinte da gramínea, deve ser a principal toxina responsável pela lesão hepatocelular (Opasina 1985, Zamri-Saad et al. 1987, Graydon et al. 1991, Driemeier et al. 2002, Brum et al. 2007, Castro et al. 2011).

Os achados clínico-patológicos nos grupos A e B demonstram que a ingestão de braquiária provoca hepatotoxicidade e morte de ovinos mesmo na ausência da exposição solar. O mecanismo exato que explique esses achados ainda não é elucidado. Uma hipótese seria a toxicidade direta da saponina aos hepatócitos devido ao seu comportamento anfifílico, provocando aumento de permeabilidade ou destruição das membranas celulares (Schenkel et al. 2004). A lipoperoxidação das membranas celulares também é apontada como um dos mecanismos moleculares responsáveis pelas lesões decorrentes à toxicidade das saponinas na intoxicação por braquiária (Zhang et al. 2001, Gomar et al. 2005).

Apesar de não haver diferença significativa entre os grupos, a morbidade mais elevada no grupo A sugere que a exposição solar não define a intoxicação, mas agrava a toxicidade da gramínea. É importante ressaltar a ausência de sinais clínicos de fotossensibilização em todos os animais, mesmo nos que morreram intoxicados. A filoteritina é um agente fotodinâmico importante, associado à fotossensibilização hepatógena, e que provoca lesões cutâneas características (Tennant 1997, Radostits et al. 2007, Gorniák 2008). Esse agente fototóxico absorve energia luminosa, provocando reações fotoquímicas com a formação de radicais livres, promovendo a peroxidação lipídica e alterações estruturais celulares (Gorniák 2008). Agentes fotodinâmicos podem provocar alterações em outros tecidos além da pele, causando também sinais nervosos em ruminantes cujo mecanismo não é conhecido (Radostits et al. 2007). Poderia se especular que as moléculas

fotosensíveis, sensibilizadas na pele pela exposição solar, permaneceriam circulantes, retornando ao fígado e provocando lesão celular no órgão.

Independentemente dos mecanismos que possam explicar a influência da exposição solar na intoxicação por *Brachiaria* spp., os achados desse experimento abrem uma nova perspectiva para elucidar sua patogenia, e para a necessidade de melhor compreendê-la, visando estabelecer novas estratégias de controle e prevenção. É premente a necessidade da expansão pecuária, especialmente da ovinocultura, de forma sustentável, aproveitando solos de menor fertilidade, sem a necessidade de produzir novos impactos ao meio ambiente. A braquiária, por suas características de rusticidade e produtividade, uma vez controlados e evitados seus problemas de toxicidade, permitiria com grande sucesso o crescimento da ovinocultura nacional em áreas impróprias à agricultura.

Quadro 1: Principais sinais clínicos e alterações histopatológicas hepáticas em ovinos expostos ao sol (grupo A) e mantidos em baias (grupo B) alimentados com braquiária durante o período experimental.

ANIMAL	SINAIS CLÍNICOS						HISTOPATOLOGIA HEPÁTICA							
	APT	EMG	FTF	SCO	HMO	ICT	TVH	NIH	ME	CCM	HDB	CCD	IMP	B/N
A 1	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	B
A 2	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	B
A 3	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	N
A 4	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	B
A 5	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	N
A 6	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	B
A 7	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	B
A 8	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	B
A 9	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	B
B 1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	B
B 2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	B
B 3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	B
B 4	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	N
B 5	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	B
B 6	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	B
B 7	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	B
B 8	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	B
B 9	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	B

Sinais Clínicos - APT: apatia; EMG: emagrecimento; FTF: fotofobia; HMO: hiperemia de mucosa ocular; SCO: secreção ocular; ICT: icterícia. Histopatologia Hepática - TVH: Tumefação e vacuolização de hepatócitos; NIH: Necrose individual de hepatócito; ME: Macrófago com citoplasma espumoso; CCM: Imagem negativa de cristais no citoplasma de macrófago; HDB: Hiperplasia de ductos biliares; CCD: Imagem negativa de cristais dentro de ductos biliares; IMP: Infiltrado mononuclear periportal; B/N: Procedência do material: B= Biópsia e N= Necropsia. Interpretação: - Ausência; + Presença.

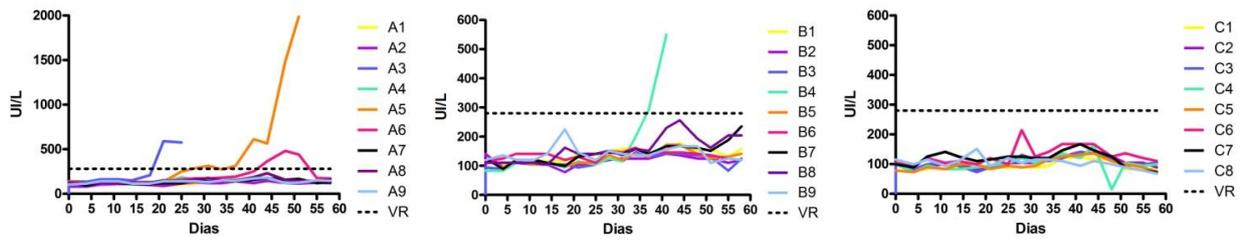


Figura 2. Níveis séricos individuais de AST dos ovinos dos grupos A, B e C, respectivamente, durante o experimento (Brasília 2012).

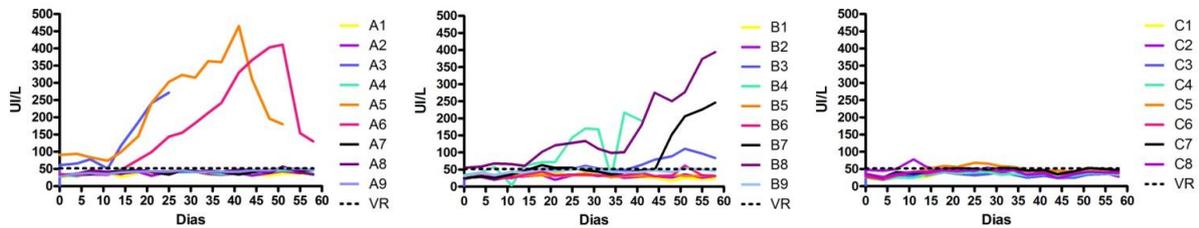


Figura 3. Níveis séricos individuais de GGT dos ovinos dos grupos A, B e C, respectivamente, durante o experimento (Brasília 2012).

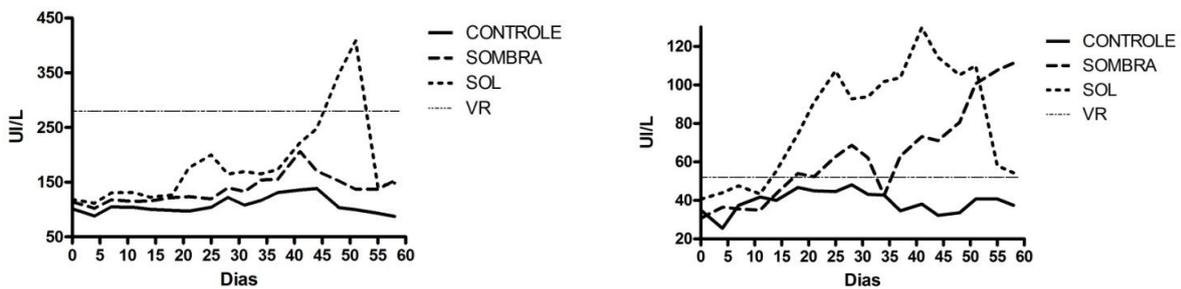


Figura 4. Níveis séricos médios de AST e GGT dos ovinos dos grupos A, B e C, respectivamente, durante o experimento (Brasília 2012).

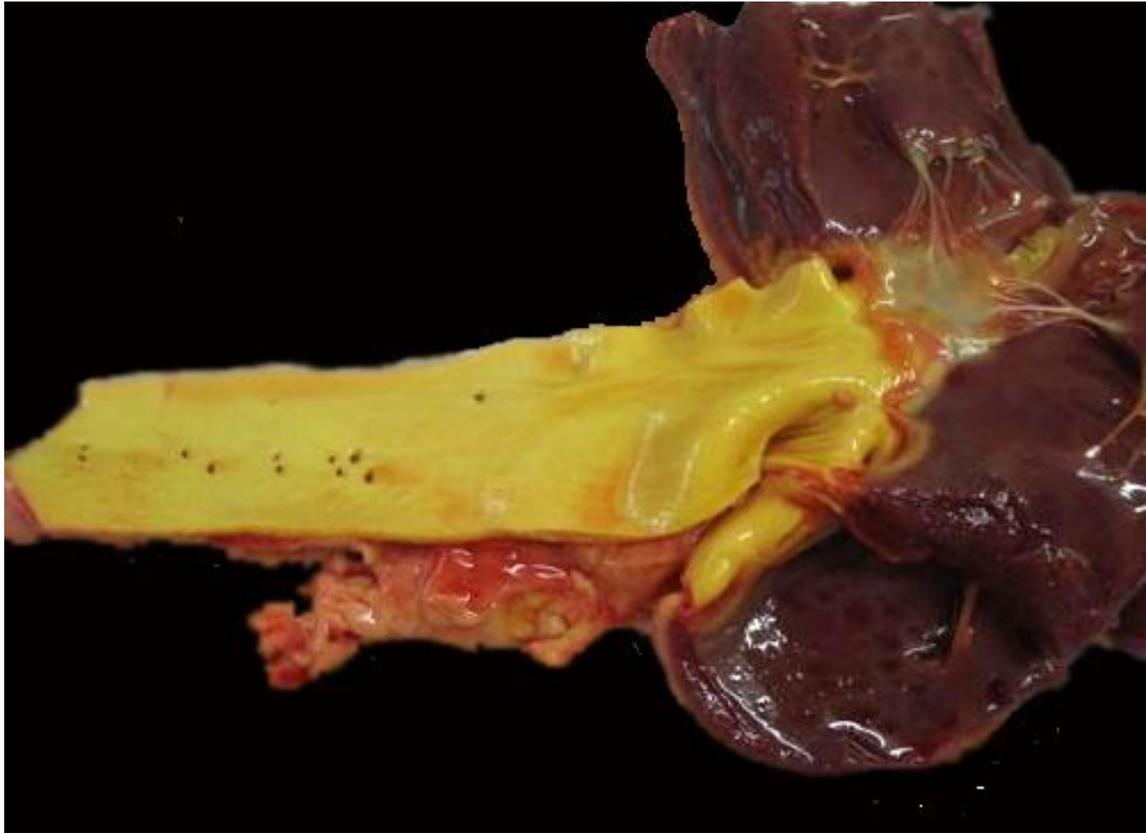


Figura 5. Aorta de ovino do grupo A intoxicado por *Brachiaria* spp., apresentando icterícia acentuada (Brasília 2012).



Figura 6. Fígado de ovino do grupo A intoxicado por *Brachiaria* spp., apresentando hepatomegalia, coloração amarelada e vesícula biliar acentuadamente distendida (Brasília 2012).

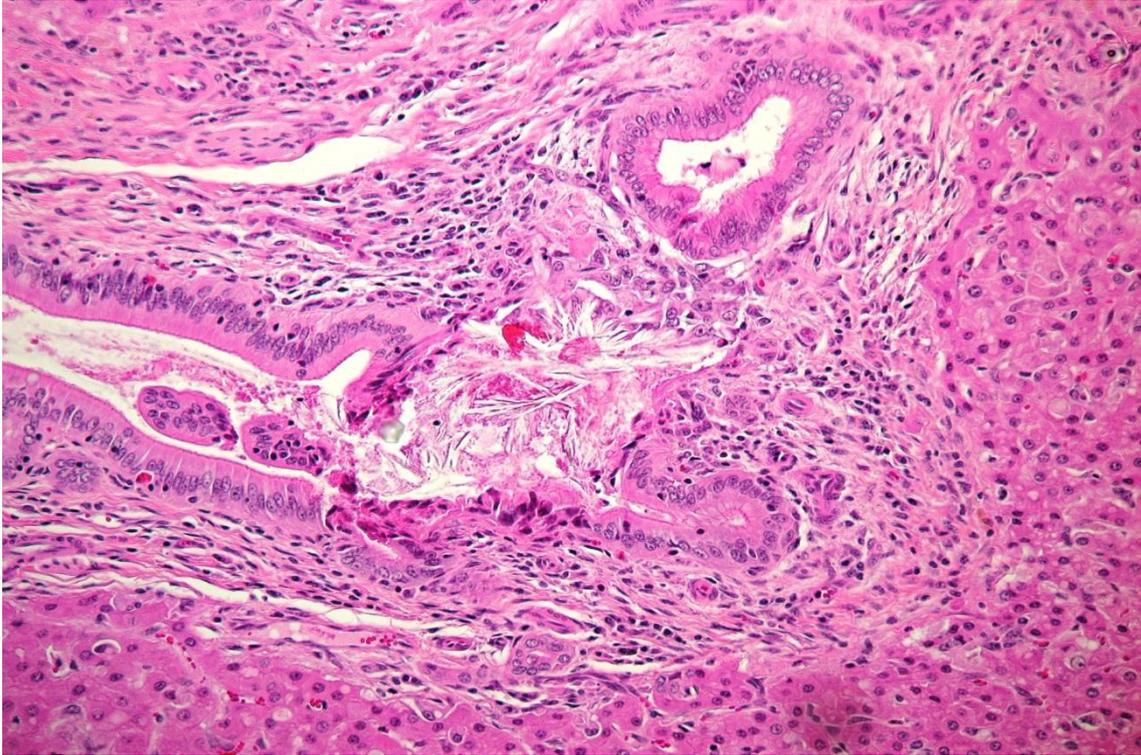


Figura 7. Fotomicrografia do fígado de ovino do grupo A intoxicado por *Bracharia* spp. Descamação e necrose do epitélio biliar, imagem negativa de cristais na luz de ducto biliar e infiltrado inflamatório mononuclear adjacente (OBJ-40x- HE) (Brasília 2012).

CONCLUSÕES

- A *Brachiaria* spp. é tóxica para ovinos independente dos animais estarem expostos ou não ao sol;
- Ovinos alimentados com *Brachiaria* spp. apresentaram aumento da atividade sérica de AST e GGT, mesmo sem demonstrar sinais clínicos da intoxicação;
- Ovinos podem apresentar elevação de AST e GGT, sem sinais clínicos, com ou sem lesão histopatológica hepática, sugerindo a ocorrência de resistência e resiliência respectivamente frente a intoxicação por braquiária;
- Sugere-se que a exposição solar não define, mas pode agravar a intoxicação por *Brachiaria* spp.

REFERÊNCIAS

- ALBERNAZ, T.T., SILVEIRA, J.A.S., SILVA, N.S., OLIVEIRA, C.H.S., REIS, A.S.B., OLIVEIRA, C.M.C., DUARTE, M.D., BARBOSA, J.D. Fotossensibilização em ovinos associada à ingestão de *Brachiaria brizantha* no Pará. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 30, p. 741-748, 2010.
- BRUM, K.B.; HARAGUCHI, M.; LEMOS R.A.A.; RIET-CORREA, F.; FIORAVANTI, M.C.S. Crystal-associated cholangiopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens* containing the saponin protodioscin. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 27, p.39-42, 2007.
- CASTRO, M.B., MOSCARDINI, A.R.C., RECKZIEGEL, G. C., NOVAES, E. P. F., MUSTAFA, V. S., PALUDO, G.R., BORGES, J.R.J., RIET-CORREA, F. Susceptibilidade de ovinos a intoxicação por *Brachiaria decumbens*. In: V Congresso Latinoamericano de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos. Buenos Aires, Argentina. **Abstracts**. 2007.
- CASTRO, M.B., SANTOS Jr., H.L.; MUSTAFA, V.S., GRACINDO, C.V., MOSCARDINI, A.C.R., LOUVANDINI, H., PALUDO, G.R., BORGES, J.R.J., HARAGUCHI, M., FERREIRA, M.B., RIET-CORREA, F. *Brachiaria* spp. poisoning in sheep in Brazil: Experimental and epidemiological findings. In: **Poisoning by Plants, Mycotoxins and Related Toxins**. 1 Ed. USA: CABI, 2011 p. 110-117.
- CHEEKE, P.R., Endogenous toxins and mycotoxins in forage grasses and their effects on livestock. **J. Anim. Sci.**, v. 73, p. 909-918, 1995.
- CRUZ, C., DRIEMEIER, D., PIRES, V.S., COLODEL, E. M., TAKETA, A..T.C., SCHENKEL, E. Isolation of steroidal sapogenins implicated in experimentally induced cholangiopathy of sheep grazing *Brachiaria decumbens* in Brazil. **Vet. Hum. Toxicol.**, v.42, p.142-145, 2000.
- CRUZ, C., DRIEMEIER, D., PIRES, V.S., SCHENKEL, E.P. Experimentally induced cholangiohepatopathy by dosing sheep with fractionated extracts from *Brachiaria decumbens*. **J. Vet. Diagn. Invest.**, v.13, n. 2, p.170-172, 2001.
- CULLEN, J.F. Fígado, sistema biliar e pancreas. In: Mc GAVIN, M.D., ZACHARY, J.F. **Bases da patologia em veterinária**. Rio de Janeiro, Brasil. Elsevier editor. 2009, 4. ed. p. 393-461.
- DRIEMEIER, D., BARROS, S.S., PEIXOTO, P.V., TOKARNIA, C.H., DÖBEREINER, J., BRITO M.F. Estudo histológico, histoquímico e ultra-estrutural de fígados e

- linfonodos de bovinos com presença de macrófagos espumosos (“foam cells”). **Pesq. Vet. Bras.**, v.18, p.29-34.1998.
- DRIEMEIER, D., DÖBEREINER, J., PEIXOTO, P.V., BRITO, M.F. Relação entre macrófagos espumosos (“foam cells”) no fígado de bovinos e ingestão de *Brachiaria* spp. no Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, v.19, p.79-83, 1999.
- DRIEMEIER, D., COLODEL, E.M., SEITZ A.L., BARROS, S.S., CRUZ, C.E.F. Study of experimentally induced lesions in sheep by grazing *Brachiaria decumbens*. **Toxicol.**, v. 40, p.1027-1031, 2002.
- FAGLIARI, J.J., PASSIPIERI, M., KUCHEMUCK, M.R.G., CURI, P.R. Intoxicação natural de bovinos pela micotoxina esporodesmina. II. Aspectos clínicos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.45, p. 275-282, 1993.
- GOMAR, M.S., DRIEMEIER, D., COLODEL, E.M., GIMENO, E.J. Lectin histochemistry of foam cells in tissues of cattle grazing *Brachiaria* spp. **J. Vet. Med. Physiol. Pathol. Clin. Med.**, v.52, p.18-21, 2005.
- GÓRNIK, S.L., Plantas Tóxicas de Interesse Agropecuário. In: SPINOSA, H. de S., GÓRNIK, S.L., PALERMO-NETO, J. **Toxicologia aplicada à Medicina Veterinária**. 1ed. São Paulo: Manole. 2008. v.1, cap. 15, p.415-458.
- GRAYDON, R.I., HAMID, H., ZAHARI, P. Photosensitization and crystal associated cholangiohepatopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens*. **Aust. Vet. J.**, v. 68, p.234-236, 1991.
- HASIAH, A.H., ELSHEIKH, H.A., ABDULLAH, A.S., KHAIRI, H.M., RAJION, M.A. Effect of phenobarbitone treatment against signal grass (*Brachiaria decumbens*) toxicity in sheep. **The Vet. J.Vet...**, v. 160, p. 267-272, 2000.
- KANEKO, J.J., HARVEY, J. W., BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. Academic Press, San Diego, 1997, p. 890-894.
- KHAIRI, H.M., ELSHEIKH, H.A., ABDULLAH, A.S. The effect of signal grass (*Brachiaria decumbens*) on drug-metabolizing enzymes in sheep and comparison with normal cells. **Vet. Hum. Toxicol.**, v.42, p.193-195, 2000.
- LEMOS, R.A.A., FERREIRA, L.C.L., SILVA, S.M., NAKAZATO, L., SALVADOR, S.C. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em ovinos em pastagem com *Brachiaria decumbens*. **Ciênc. Rural**, v.26, p.109-113, 1996.
- LEMOS, R.A.A., SALVADOR, S.C., NAKAZATO, L. Photosensitization and crystal associated cholangiohepatopathy in cattle grazing *Brachiaria decumbens* in Brazil. **Vet. Hum. Toxicol.**, v.39, p. 376-377, 1997.

- LEMOS, R.A.A., OLIVEIRA, V.A., HERRERO Jr, G.O., SILVEIRA, A.C., PORFÍRIO, L.C. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em caprinos mantidos sob pastagens de *Brachiaria decumbens* no Mato Grosso do Sul. **Ciênc. Rural**, v. 28, p.507-510, 1998.
- LEMOS, R.A.A., PURISCO, E. Plantas que causam fotossensibilização hepatógena. In: Lemos, R.A.A.; Barros, N.; Brum, K.B. **Enfermidades de interesse econômico em bovinos de corte: Perguntas e respostas**. Campo Grande: UFSM. 2002. 292p.
- MCGAVIN, M.D. & ZACHARY, J.F. Hepatobiliary System and Exocrine Pancreas – Defense Mechanisms. In: **Pathologic Basis of Veterinary Disease**. 5 Ed. Missouri: Elsevier. 2012, p. 420.
- MENDONÇA, F.S., CAMARGO, L.M., FREITAS, S.H., DÓRIA, R.G.S., BARATELLA-EVÊNCIO, L., EVÊNCIO NETO, J. Aspectos clínicos e patológicos de um surto de fotossensibilização hepatógena em ovinos pela ingestão de *Brachiaria decumbens* (Gramineae) no município de Cuiabá, Mato Grosso. **Ciênc. Anim. Bras.**, v. 9, n. 4, p. 1034-1041, 2008.
- MUSTAFA, V. **Caracterização da intoxicação natural por *Brachiaria* spp em ovinos no Brasil Central**. Brasília: UnB, FAV, 2009. 71 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal).
- NÉSPOLI, P.B., GHELLER, V.A., PEIXOTO, P.V., FRANÇA, T.N., CARVALHO. A.U., ARAÚJO, D.K.G., MALM, C. Avaliação de técnicas de biópsia hepática em ovinos. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 30, n. 1, p. 29-36, 2010.
- OPASINA, B.A. Photosensitization jaundice syndrome in West African dwarf sheep and goats grazed on *Brachiaria decumbens*. **Trop. Grassl.**, v.19, n. 3, p. 120-123, 1985.
- OSWEILER, G.D., **Toxicologia Veterinária**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1998, cap. 13, p. 169-171.
- PIMENTEL, L.A., RIET-CORREA, F., GUEDES, K.M.R., MACEDO, J.T.S.A, MEDEIROS, R.M.T., DANTAS, A.F.M. Fotossensibilização primária em equídeos e ruminantes no semi-árido causada por *Froelichia humboldtiana* (Amaranthaceae). **Pesq. Vet. Bras.**, v. 27, p. 23-28, 2007.
- RADOSTITS, O.M., GAY, C.C, HINCHCLIFF, K.W., CONSTABLE, P.D. Diseases of the epidermis and dermis - Photosensitization. In: **Veterinary Medicina: A**

- textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats.** 10 Ed. Spain: Saunders Elsevier, p. 659-661, 2007.
- RIET-CORREA, F., MÉNDEZ, M. D. C. Intoxicações por plantas tóxicas e micotoxinas. In: RIET-CORREA, F., SCHILD, A.L., LEMOS, R.A.A., BORGES, J.R.J. **Doenças de Ruminantes e Eqüídeos.** 3. ed. Vol. 2, Santa Maria: Fernovi editora, 2007, p. 99-221.
- RIET-CORREA, G., RIET-CORREA, F., SCHILD, A.L., DRIEMEIER, D. Wasting and death in cattle associated with chronic grazing of *Brachiaria decumbens*. **Vet. Hum. Toxicol.**, v. 44, n. 3, p. 179-180, 2002.
- RIET-CORREA, B., CASTRO, M.B., LEMOS, R.A.A., RIET-CORREA, G., MUSTAFA, V., RIET-CORREA, F. *Brachiaria* spp. poisoning of ruminants in Brazil. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 31, n. 3, p. 183-192, 2011.
- SANTOS, J.C.A., RIET-CORREA, F., SIMÕES, S.V., BARROS, C.S.L. Patogênese, sinais clínicos e patologia das doenças causadas por plantas hepatotóxicas em ruminantes e eqüinos no Brasil. **Pesq.Vet. Bras.**, v.28, n. 1, p.1-14, 2008.
- SANTOS Jr., H.L. **Estudo da toxicidade de diferentes estágios de crescimento da *Brachiaria decumbens* em ovinos.** Brasília: UnB, FAV, 2008. 70 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal).
- SANTOS JUNIOR H.L.. MOSCARDINI A. R.C., PALUDO G., RIET-CORREA F., BORGES J.R.J., CASTRO M.B. **Estudo da toxicidade de diferentes estágios de crescimento da *Brachiaria decumbens* em ovinos.** Anais Endivet, Campo Grande, MS, 2008. p. 135-136.
- SATURNINO, K.C., MARIANI, T.M., BARBOSA-FERREIRA, M., BRUM, K.B., FERNANDES, C.E.S., LEMOS, R.A.A. Intoxicação experimental por *Brachiaria decumbens* em ovinos confinados. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 30, n. 3, p. 195-202, 2010.
- SILVA, D. M., RIET-CORREA, F., MEDEIROS, R.M.T., OLIVEIRA, O.F. Plantas tóxicas para ruminantes e eqüídeos no Seridó Ocidental e Oriental do Rio Grande do Norte. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 26, n. 4, p. 223-236, 2006.
- SCHENKEL, E.P., GOSMANN, G., ATHAYDE,. Saponinas. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P., GOSMANN, G., MELLO, J.C.P., MENTZ, L.A., PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5 Ed. Porto Alegre/ Florianópolis: UFSC. 2004.

- SEITZ, A. L., ROZZA, D. B., FELTRIN, C., TRAVERSO, S. D., COLODEL, E.M., DRIEMEIER, D. Fotossensibilização por *Brachiaria decumbens* em ovinos no Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 24, p. 67, 2004.
- SILVA, D. M., RIET-CORREA, F., MEDEIROS, R.M.T., OLIVEIRA, O.F. Plantas tóxicas para ruminantes e eqüídeos no Seridó Ocidental e Oriental do Rio Grande do Norte. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 26, n. 4, p. 223-236, 2006.
- SMITH, B. L., MILES, C. O. A letter to the editor: a role for *Brachiaria decumbens* in heoatogenous photosensitization of ruminants? **Vet. and Hum. Toxicol.**, v. 35, n. 3, p. 256-257, 1993.
- STEGELMEIER, B.L. Equine Photosensitization. **Clin Tech Equine Pract.**, v. 2, p. 81-88, 2002.
- TENNANT, B.C. Hepatic function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5ed. London: Academic Press, 1997, p.327-352.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; SILVA, M. F. **Plantas tóxicas da Amazônia: a bovinos e outros herbívoros**. INPA: IBGE, Rio de Janeiro, 1979, 95 p.
- TOKARNIA, C.H., DÖBEREINER, J & PEIXOTO, P.V. **Plantas Tóxicas do Brasil**. Helianthus: Rio de Janeiro, 2000, 310 p.
- TUFFI SANTOS, L.D., SANTOS, I.C., OLIVEIRA, C.H., SANTOS, M.V., FERREIRA, F.A., QUEIROS, D.S. Levantamento fitossociológico em pastagens degradadas sob condições de várzea. **Planta daninha**. Viçosa-MG, v. 22, n. 3, p. 343-349, 2004.
- ZAMRI-SAAD, M., SHARIF, H., MANZI, O. Pathological changes in indigenuous sheep of Malaysia following grazing on *Brachiaria decumbens*. **Kajian Veterinar.**, v. 19, n. 1, p. 9-12, 1987.
- ZHANG, S.S., NOORDIN, M.M., RAHMAN, S.O., HARON, M.J. The effect of zinc supplementation on antioxidant and lipid peroxidation status during *Brachiariadecumbens* intoxication in sheep. **Vet. Hum. Toxicol.**, v. 43, n. 2, p. 83-87, 2001.

CAPÍTULO III

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A intoxicação por *Brachiaria* spp. em ovinos ocorre durante todo o ano no Brasil e acarreta grandes prejuízos à ovinocultura. Entretanto algumas lacunas, como a influência da exposição solar, na patogenia desta intoxicação ainda não foram totalmente esclarecidas. O presente estudo observou que o potencial tóxico dessa forrageira independe do animal estar ou não exposto à radiação solar, porém tanto as taxas de morbidade como de letalidade foram maior no grupo de animais expostos ao sol (grupo A) em relação ao grupo albergado (grupo B).

Os sinais clínicos apresentados pelos ovinos intoxicados foram característicos da intoxicação (hiperemia e secreção ocular, icterícia, apatia, emagrecimento e fotofobia), mas nenhum com lesões de fotossensibilização. Este fato pode estar relacionado à resistência (animal não adoeça, mas apresenta lesões hepáticas), à resiliência (não há doença nem alteração hepática) ou à pelagem negra dos animais experimentados.

Os níveis séricos de AST e GGT demonstraram-se bons indicadores da hepatotoxicidade da braquiária, pois todos os animais que ingeriram a gramínea, independente da exposição solar, apresentaram aumento destas enzimas. Porém dois animais do grupo B não demonstraram sinais clínicos e apresentaram elevações significativas de GGT no final do experimento, sendo que um teve lesão hepática semelhante aos ovinos intoxicados e o outro não. Isto sugere a existência de resistência e resiliência à intoxicação por *Brachiaria* spp..

Biópsia hepática foi realizada em todos os animais do experimento e necropsia nos que morreram. Os achados anatomopatológicos estão relacionados com alterações na atividade hepática e consistem principalmente de hepatomegalia, com alteração na coloração e distensão da vesícula biliar. Na análise histopatológica do fígado observou-se tumefação e vacuolização dos hepatócitos, necrose individual de hepatócitos, macrófagos espumosos, com cristais intracitoplasmáticos e dentro de ductos biliares, e infiltrado mononuclear periportal.

Os achados clínico-patológicos nos grupos A e B sugerem que a exposição solar não define a intoxicação, mas agrava a toxicidade da braquiária. Até o momento, não havia sido provada que a hepatotoxicidade da gramínea em ovinos pode ser fatal, mesmo na ausência da exposição solar e os mecanismos relacionados a esses achados ainda não são totalmente elucidados. Contudo a toxicidade direta da saponina ao hepatócitos, a lipoperoxidação das membranas celulares e a lesão hepática causada pelas moléculas fotossensíveis resultantes da filoeitrina podem ser apontadas como hipóteses desses mecanismos.

A ausência dos esporos de *P. chartarum* nas amostras coletadas de capim, associada aos achados clínico-patológicos reforçam que a saponina esteroidal litogênica é a principal responsável pela intoxicação por braquiária nos ovinos.

É de fundamental importância estabelecer quais fatores influenciam na ocorrência dessa intoxicação, visando estabelecer novas estratégias de controle e prevenção, uma vez que a *Brachiaria* spp. é a principal forrageira utilizada como pastagem no Brasil, e sua utilização é premente à expansão da pecuária nacional, especialmente da ovinocultura.

ANEXO – RESUMO APRESENTADO NO CONGRESSO MUNDIAL DE BUIATRIA

