



**Universidade Federal do Pará  
Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Amazônia Oriental  
Universidade Federal Rural da Amazônia  
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal**

**TATIANE TELES ALBERNAZ**

**FOTOSSENSIBILIZAÇÃO EM OVINOS ASSOCIADA À  
INGESTÃO DE *Brachiaria brizantha* NO ESTADO DO PARÁ.**

**BELÉM-PA  
2009**

**TATIANE TELES ALBERNAZ**

**FOTOSSENSIBILIZAÇÃO EM OVINOS ASSOCIADA À  
INGESTÃO DE *Brachiaria brizantha* NO ESTADO DO PARÁ.**

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em  
Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência  
Animal. Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento  
Rural. Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de  
Pesquisa Agropecuária - Amazônia Oriental. Universidade  
Federal Rural da Amazônia.

Área de concentração: Sanidade Animal.

**Orientador:** Prof<sup>o</sup>. Dr. José Diomedes Barbosa Neto

**BELÉM-PA  
2009**

**TATIANE TELES ALBERNAZ**

**FOTOSSENSIBILIZAÇÃO EM OVINOS ASSOCIADA À  
INGESTÃO DE *Brachiaria brizantha* NO ESTADO DO PARÁ.**

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em  
Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência  
Animal. Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento  
Rural. Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de  
Pesquisa Agropecuária - Amazônia Oriental. Universidade  
Federal Rural da Amazônia.  
Área de concentração: Sanidade Animal.

Data da aprovação Belém-PA: \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>o</sup> Dr. José Diomedes Barbosa Neto  
Universidade Federal do Pará

---

Prof<sup>a</sup> Dr. Carlos Hubinger Tokarnia  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>o</sup>. André Guimarães Maciel e Silva  
Universidade Federal do Pará

**BELÉM-PA**  
**2009**

À minha família e aos meus verdadeiros  
amigos, sempre companheiros; em  
especial ao meu esposo Paulo Allan,  
ímpar em meus dias.



## AGRADECIMENTOS

A Deus por ter permitido a realização de mais um sonho em minha vida.

Aos meus familiares, por terem me dado educação, carinho e força, sempre me incentivado aos estudos e valorizando meus potenciais.

Ao meu esposo pela compreensão nos momentos ausentes, pelo amor, carinho e companheirismo.

Ao professor e amigo Dr. José Diomedes Barbosa Neto, orientador desta dissertação, por todo empenho, sabedoria, compreensão e, acima de tudo, exigência, qualidades que fizeram com que concluíssemos esse trabalho. Também agradeço pela oportunidade de crescimento, aprendizado, realização profissional e pessoal, pela confiança em mim depositada.

Ao professor e amigo MSc. Carlos Magno Chaves Oliveira, por sempre me incentivar na busca do crescimento, sendo exemplo de competência, garra, determinação e disciplina.

Ao Médico Veterinário, antes de tudo, grande amigo, MSc. José Alcides Sarmento da Silveira que muito me ajudou nessa dissertação e foi, não só um amigo, mas também um grande colaborador ao longo de toda minha jornada acadêmica e agora profissional.

Aos professores Marcos Duarte e Valéria Duarte pela amizade, incentivo e contribuição com os seus conhecimentos.

Ao professor Raimundo Parente de Oliveira pela realização das análises estatísticas, pela sua dedicação e empenho.

Ao Prof<sup>o</sup> Dr. Carlos Hubinger Tokarnia e ao Prof<sup>a</sup>. Dr. André Guimarães Maciel e Silva pela participação na banca de defesa desta dissertação, proporcionando discussões e sugestões que servirão para crescimento, aprendizado e incentivo à pesquisa.

Aos estagiários e mestrados pelo auxílio na coleta de dados, companheirismo e pela amizade.

Ao amigo Roberto pela amizade e por ter cedido à propriedade e os animais para o estudo dos surtos e do experimento.

Aos animais que participaram desta pesquisa, pois sem eles nenhuma dessas páginas estaria completa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro com a bolsa de mestrado concedida.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução dessa Dissertação de Mestrado, MUITO OBRIGADA.

“Não confunda derrotas com fracasso nem vitórias com sucesso. Na vida de um campeão sempre haverá algumas derrotas, assim como na vida de um perdedor sempre haverá vitórias. A diferença é que, enquanto os campeões crescem nas derrotas, os perdedores se acomodam nas vitórias.”

Roberto Shinyashiki

## RESUMO

Foram estudados dois surtos e realizado um experimento de fotossensibilização associada à ingestão por *Brachiaria brizantha* em ovinos mestiços de Santa Inês e Dorper, com idade variando de dois a três meses, em uma fazenda no município de Santa Luzia do Pará. Esses animais foram mantidos desde o nascimento até aproximadamente dois meses de idade, em apriscos suspensos do chão, recebendo capim-elefante roxo (*Pennisetum purpureum*) cv. roxo, concentrado, sal mineral e água *ad libitum*. Após esse período foram introduzidos em um piquete de *B. brizantha*. Na ocasião dos surtos e do experimento a fazenda foi visitada para observação dos dados epidemiológicos, avaliação clínica dos animais, colheita de amostras de sangue para dosagem de GGT, AST, BD, BI, BT, uréia e creatinina e colheita de pastagem para pesquisa de *Pithomyces chartarum* e saponinas. Também foi realizada necropsia com colheita de material para estudo histológico. O surto 01 ocorreu na época de escassez de chuva, com taxa de morbidade e letalidade de 43,4% e 81,6%, respectivamente. O surto 02 aconteceu no início da época chuvosa, com taxas de morbidade e letalidade de 16,3% e 76,9%, respectivamente. Em ambos os surtos o capim encontrava-se com massa residual reduzida e senescente. Dos 50 animais do experimento, 10 receberam 200 ml de fluido ruminal retirado de ovelhas mães do mesmo lote, a primeira administração foi feita um dia antes da introdução desses animais na pastagem, e mais duas subsequentes com intervalo de uma semana. Após 15 dias de pastejo, os animais começaram a apresentar inquietação, procura por sombra, edema nas orelhas, mucosas amareladas, apatia, anorexia e desprendimento da pele seguido por formação de crostas em algumas áreas do corpo. Tanto os animais dos surtos quanto do experimento apresentaram aumento nos níveis de GGT, AST, BD, BI, BT, uréia e creatinina. Os valores de uréia e GGT dos animais que receberam fluido ruminal e dos que não receberam foram semelhantes, já os valores de creatinina, AST e bilirrubinas foram menores nos animais que receberam fluido ruminal em comparação aos que não receberam. Foram determinados dois tipos de saponinas nas amostras de *B. brizantha* dos surtos e do experimento, a metilprotodioscina e a protodioscina. O nível de saponina no surto 01 e 02 foi 0,92% e 0,88%, respectivamente. Os níveis de saponinas no experimento variaram de 1,13% a 1,62%. A quantidade de *Pithomyces chartarum*, tanto nos surtos quanto no experimento, foi insignificante. Na necropsia foi verificada icterícia generalizada, fígado com consistência aumentada de coloração amarelada com padrão lobular acentuado e degeneração gordurosa. Nos rins foi observada coloração amarelo-esverdeado e aumento de tamanho. As alterações histológicas ocorreram principalmente no fígado e podem ser descritas como leve proliferação das vias biliares nos espaços porta, presença de hepatócitos binucleados, presença de macrófagos espumosos, necrose incipiente de hepatócitos isolados, colangite, presença de cristais em macrófagos e hepatócitos.

Palavras-chave: Fotossensibilização. Ovinos. *Brachiaria brizantha*. Saponinas.

## ABSTRACT

Two outbreaks of photosensitization by *Brachiaria brizantha* were studied and an experiment was performed in Santa Inês and Dorper crossbred sheep, two to three months old, in a farm in Santa Luzia do Pará. These animals were kept from birth until about two months, in a suspended stall floor, fed purple elephant grass (*Pennisetum purpureum*) cv. purple, mineral and water *ad libitum*. After this period they were placed in a paddock of *B. brizantha*. At the time of the outbreaks and the experimental studies, the farm was visited for epidemiological assessment and clinical examination of the animals, collection of blood samples for measurement of gamma glutamyltransferase, aspartate aminotransferase, conjugated bilirubin, unconjugated bilirubin, urea, creatinine. Pasture samples were collected for saponin determination and for the count of *Pithomyces chartarum* spores. Necropsies with collection of material for histopathological studies were performed. Outbreak 01 occurred at the time of low rainfall, when the grass was scarce and old, when morbidity and mortality was 43.4% and 81.6%, respectively. The outbreak 02 occurred at the beginning of the rainy season, with morbidity and mortality rates of 16.3% and 76.9%, respectively. Of the 50 animals in the experiment, 10 received three times 200 ml of rumen fluid taken from sheep mothers of the same batch. The first of these administrations was given one day before the animals were introduced in the pasture and the other two at weekly intervals. After 15 days in the pasture, the animals were unquiet, looked for shade, had edema of the ears, yellowish mucosae, were apathic, had anorexia and showed loosening of the skin followed by crusting in some areas of the body. Both, animals of the outbreaks and from the experiment, showed increased levels of GGT, AST, BD, BI, BT, urea and creatinine. In the animals which received ruminal fluid the values of urea and GGT were similar to those which did not receive the ruminal fluid. The creatinine, AST and bilirubin values were lower in the animals which received the ruminal fluid. Two types of saponins, methylprotodioscin and protodioscin, were determined in the samples of *B. brizantha* from the outbreaks and the experiment. The level of saponins in the outbreak 01 and 02 was 0.92% and 0.88% respectively. The levels of saponins in the experiment ranged from 1.13% to 1.62%. The amount of *Pithomyces chartarum* spores in both outbreaks and in the experiment was negligible. Widespread jaundice, increased liver consistently, yellowed, pronounced lobular pattern and fatty degeneration was found at necropsy. The kidneys were increased and were yellowish-green. Histological changes occurred mainly in the liver and can be described as mild proliferation of bile ducts in portal tracts, the presence of binucleate hepatocytes, foamy macrophages, incipient necrosis of isolated hepatocytes, cholangitis, presence of crystals in hepatocytes and macrophages.

Keywords: Photosensitization, sheep, *Brachiaria brizantha*, saponins.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Propriedade onde ocorreram os surtos e o experimento de intoxicação em ovinos por capim <i>Brachiaria brizantha</i> .....	22
Figura 2	Lote de ovinos utilizado no experimento.....	22
Figura 3	Aprisco onde os animais eram mantidos antes da introdução na pastagem de <i>B brizantha</i> .....	22
Figura 4	Administração de suco de rúmen, através de sonda oro-esofágica, para um cordeiro do experimento.....	22
Figura 5	Avaliação clínica de um cordeiro do experimento.....	23
Figura 6	Colheita de sangue de um cordeiro por venopunção da jugular em sistema à vácuo.....	23
Figura 7	Pastagem de capim <i>B. brizantha</i> , com massa residual reduzida e senescente, na qual foram introduzidos os animais do surto 01.....	27
Figura 8	Edema auricular em um cordeiro intoxicado por <i>B. brizantha</i> , evidenciado pelo teste de Godet positivo.....	27
Figura 9	Intoxicação natural por <i>Brachiaria brizantha</i> em ovinos. (A) Edema prepucial. (B) Edema na base da cauda. (C) Esclera amarelada, corrimento e retração do globo ocular.....	27
Figura 10	Intoxicação natural por <i>Brachiaria brizantha</i> em ovinos. (A) Dermatite acentuada com perda de pele na região dos olhos, orelhas, focinho e (B) membros.....	27
Figura 11	Carcaça com coloração amarelada, de um ovino intoxicado por <i>B. brizantha</i> ....	28

Figura 12	Fígado com coloração amarelada e padrão lobular acentuado, de um ovino intoxicado por <i>B. brizantha</i> .....	28
Figura 13	Vesícula biliar distendida, de um ovino intoxicado por <i>B. brizantha</i> .....	29
Figura 14	Rim com coloração amarelada e aumentado de tamanho, de um ovino intoxicado por <i>B. brizantha</i> .....	29
Figura 15	Cordeiro intoxicado por <i>B. brizantha</i> dentro de um bueiro na tentativa de se proteger dos raios solares.....	32
Figura 16	Cordeiro em fase de recuperação da intoxicação por <i>B. brizantha</i> , notar alopecia.....	32
Figura 17	Espaço porta com discreta fibrose (F), necrose individual de hepatócitos (cabeça de seta) e presença de macrófagos espumosos em sinusóides (seta). HE, obj. 20x.....	33
Figura 18	Ducto biliar (D) envolto por colangite mononuclear (C) e com presença de cristal refringente sob luz polarizada no seu interior (seta). HE, obj. 40x.....	33
Figura 19	Valores médios de uréia, creatinina, aspartato aminotransferase (AST), gama glutamiltransferase (GGT), bilirrubina direta (BD), bilirrubina indireta (BI) e bilirrubina total (BT), ao longo do período do experimento, dos animais que receberam o fluido ruminal (Com) e dos animais que não receberam (Sem).....	37

## LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Valores bioquímicos da função renal e hepática dos ovinos do surto 01 e surto 02	30
Tabela 02	Níveis e tipos de saponinas encontradas em amostras de <i>Brachiaria brizantha</i> , onde pastavam os animais do surto 01 e 02.....	30
Tabela 03	Valores bioquímicos da função renal e hepática de ovinos, que não receberam fluido ruminal, antes e após a introdução na pastagem de <i>B. brizantha</i> .....	35
Tabela 04	Valores bioquímicos da função renal e hepática de ovinos, que receberam fluido ruminal, antes e após a introdução na pastagem de <i>B. brizantha</i> .....	36
Tabela 05	Níveis e tipos de saponinas encontradas no decorrer do experimento nas amostras de <i>Brachiaria brizantha</i> , onde pastavam os animais.....	36

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVOS.....	13
2.1. Objetivo geral.....	13
2.2. Objetivos específicos.....	13
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3.1. Epidemiologia.....	16
3.2. Sinais clínicos.....	17
3.3. Achados bioquímicos.....	18
3.4. Achados de necropsia.....	18
3.5. Achados histopatológicos.....	19
3.6. Tratamento e controle.....	20
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
4.1. Área de estudo e animais.....	21
4.2. Estudo epidemiológico.....	21
4.3. Exame clínico.....	22
4.4. Bioquímica renal e hepática.....	23
4.5. Achados de necropsia.....	23
4.6. Achados histológicos.....	23
4.7. Determinação dos níveis de saponinas em amostras da pastagem de <i>B. brizantha</i> .....	24
4.8. Contagem de esporos de <i>Pithomyces chartarum</i> em amostras da pastagem de <i>B. brizantha</i> .....	24
4.9. Análises estatísticas.....	24
5. RESULTADOS.....	25



5.1. INTOXICAÇÃO NATURAL .....	25
5.1.1. Epidemiologia.....	25
5.1.2. Sinais clínicos.....	26
5.1.3. Bioquímica hepática e renal.....	28
5.1.4. Achados de necropsia.....	28
5.1.5. Achados histológicos.....	28
5.1.6. Determinação dos níveis de saponinas em amostras da pastagem de <i>B. brizantha</i> .....	29
5.1.7. Contagem de esporos de <i>Pithomyces chartarum</i> em amostras da pastagem de <i>B. brizantha</i> .....	29
5.2. INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL.....	31
5.2.1. Epidemiologia.....	31
5.2.2. Sinais clínicos.....	31
5.2.3. Bioquímica hepática e renal.....	32
5.2.4. Achados de necropsia.....	33
5.2.5. Achados histológicos.....	33
5.2.6. Determinação dos níveis de saponinas em amostras da pastagem de <i>B. brizantha</i> .....	34
5.2.7. Contagem de esporos de <i>Pithomyces chartarum</i> em amostras da pastagem de <i>B. brizantha</i> .....	34
6. DISCUSSÃO.....	38
7. CONCLUSÕES.....	41
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

## 1- INTRODUÇÃO

A ovinocultura no agronegócio brasileiro é ainda considerada uma atividade de pouca expressão econômica, principalmente quando se considera a sua contribuição para a formação do valor bruto da produção agropecuária.

Segundo o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2007), o Brasil possui um rebanho de aproximadamente 16 milhões de ovinos. As atividades do setor se concentram em duas regiões principais, a Nordeste e a Sul. A região Nordeste detém o maior rebanho nacional de ovinos, 58% do total nacional, enquanto a região Sul possui 29%. A região Centro-Oeste tem importante participação, sendo responsável por 6% do rebanho de ovinos.

A região Norte tem uma pequena participação no efetivo nacional, aproximadamente 3%; vale ressaltar que a criação de ovinos nessa região ainda é recente, no entanto, nos últimos 10 anos o rebanho teve um crescimento de 71%, o número de ovinos passou de 305.236 para 521.640 animais. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (2007), o estado do Pará tornou-se o maior produtor com um rebanho em torno de 178 mil cabeças.

A maioria desses animais é criado em sistema extensivo, em pastagens formadas por *Brachiaria* spp. Atualmente, o estado possui cerca de 15 milhões de hectares dessa gramínea, representando 14% do total nacional; grande parte dessa área é formada por capim *Brachiaria brizantha* (DIAS-FILHO & ANDRADE, 2006).

Pela alta produção de matéria seca, fácil difusão, boa adaptação a diferentes solos, por crescer durante a maior parte do ano e pelo baixo custo de manutenção da área cultivada a *Brachiaria* spp. é a forrageira mais importante nas regiões centro-oeste, sudeste e norte do Brasil (SEIFFERT, 1980; DRUDI et al., 1995; FERRAZ & FIGUEIREDO JR, 2003).

Apesar do predomínio da pecuária extensiva no Pará, um aspecto digno de nota é o fato de que, em algumas propriedades, os produtores adotam o manejo de manterem os ovinos durante os primeiros 30 a 60 dias de nascimento, em apriscos suspensos do chão, recebendo capim *Pennisetum purpureum* no cocho, sal mineral e água *ad libitum*. A justificativa é evitar que os cordeiros sejam atacados por predadores, percam-se nas pastagens ou adquiram verminose.

Levando em consideração as qualidades da *Brachiaria* spp. como forrageira, os maiores problemas na utilização dessas pastagens são as cigarrinhas, degradação e os casos esporádicos de fotossensibilização hepatógena (RESENDE et al., 2008).

A fotossensibilização associada à ingestão de *Brachiaria* spp. é freqüente no Brasil, no entanto, os fatores epidemiológicos envolvidos no aparecimento dessa enfermidade, os níveis de saponinas considerados tóxicos para os animais e as condições da pastagem capazes de provocar toxicidade são pouco conhecidos.

Para obter esses conhecimentos é necessário estabelecer um perfil epidemiológico que seja capaz de esclarecer as condições envolvidas no surgimento de fotossensibilização nesse tipo de pastagem. Esse conhecimento permitirá estabelecer medidas de profilaxia e controle para diminuir as perdas econômicas causadas por esta intoxicação.

Com esta finalidade foram estudados dois surtos de fotossensibilização em cordeiros mantidos em pastagem de *B. brizantha* e realizado um experimento com cordeiros no mesmo tipo de pastagem.

## **2- OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral:**

Caracterizar o quadro clínico-patológico, perfil bioquímico hepático e renal, bem como os fatores epidemiológicos de ovinos intoxicados experimentalmente e naturalmente por *B. brizantha* no estado do Pará, com o intuito de se estabelecer estratégias de controle e profilaxia.

### **2.2. Objetivos específicos:**

Estudar os fatores epidemiológicos envolvidos no aparecimento da fotossensibilização em ovinos em pastagem de *B. brizantha*.

Determinar os níveis de saponinas na pastagem de *B. brizantha* onde se alimentam os ovinos intoxicados;

Determinar os níveis de esporos de *Pithomyces chartarum* na pastagem de *B. brizantha* onde se alimentam os ovinos intoxicados;

Avaliar o efeito da administração de fluido ruminal na prevenção da intoxicação por *B. brizantha*;

Avaliar a função hepática através da determinação dos níveis de AST (aspartato amino-transferase), GGT (gama glutamiltransferase), BD (bilirrubina direta), BI (bilirrubina indireta) e BT (bilirrubina total), em ovinos submetidos à experimentação e nos casos naturais de intoxicação por *B. brizantha*;

Avaliar a função renal através da determinação dos níveis de uréia e creatinina, em ovinos submetidos à experimentação e nos casos naturais de intoxicação por *B. brizantha*.

### 3- REVISÃO DE LITERATURA

A fotossensibilização é uma dermatite caracterizada por sensibilidade exagerada do animal aos raios solares, que causa perdas econômicas por morte de animais e, principalmente por menor ganho ou perda de peso (RIET CORREA & MEDEIROS, 2000).

Basicamente existem dois tipos de fotossensibilização: a fotossensibilização primária e a secundária ou hepatógena. Ambos os tipos de fotossensibilização estão relacionados à presença do agente fotossensibilizador na corrente sanguínea (TOKARNIA et al., 2000).

Na fotossensibilização primária causada por planta, essa possui um pigmento, não encontrado normalmente na dieta, que é absorvido pela mucosa intestinal, atravessa a barreira hepática, cai na circulação geral e alcança a pele, onde induz a uma excessiva sensibilidade aos raios solares. Na fotossensibilização secundária causada por planta, o processo é mais complexo. A planta possui uma substância tóxica que provoca alterações no parênquima hepático ou nos ductos biliares com perturbações no mecanismo de eliminação da filoteritina (CLARE, 1955; WEISS, 1962).

A filoteritina é um pigmento fluorescente formado nos pré-estômagos dos ruminantes, a partir da clorofila, pela ação desdobradora dos microorganismos aí existentes; em pequena escala a filoteritina é absorvida pela mucosa intestinal. Em condições normais este pigmento é eliminado pelo fígado através da bile. Nos casos de fotossensibilização secundária, a lesão hepática perturba esse mecanismo; a filoteritina passa à circulação sistêmica e alcança a pele, onde induz a hipersensibilidade aos raios solares (CLARE, 1955; WEISS, 1962).

A fotossensibilização observada em pastagens de *Brachiaria* spp. era atribuída à toxina esporodesmina produzida por esporos do fungo *Pithomyces chartarum* nas pastagens (NOBRE & ANDRADE, 1976; FIORAVANTI, 1999). Atualmente, a toxicidade para animais em pastagens de *Brachiaria* spp. é atribuída à presença de saponinas esteroidais litogênicas na própria gramínea (GRAYDON, 1991; SMITH & MILES, 1993; LEMOS et al., 1997).

Os primeiros indícios foram observados em ovinos pastando *Brachiaria decumbens*, que apresentaram alterações na motilidade e pH ruminal e severa fotossensibilização (SALAM ABDULLAH et al., 1988). Estes achados foram atribuídos a compostos da planta, presentes no rúmen e capazes de provocar toxicidade hepática. Os compostos hepatotóxicos foram mais tarde identificados como saponinas esteroidais (SALAM ABDULLAH et al., 1992).

As saponinas são glicosídeos que alteram a permeabilidade das paredes celulares, sendo tóxicas para todos os tecidos organizados (BLAKISTON, 1979). Elas possuem um núcleo tipo furostanólico ou espirostanólico, que contém uma ou várias cadeias de açúcares. Seu nome

deriva da propriedade mais característica desse grupo de compostos, que é a formação de espuma persistente e abundante quando em solução aquosa (SANTOS, 2000).

A hidrólise das saponinas de *Brachiaria decumbens* (protodioscina) e outras plantas (dicotomina em *Panicum* spp.) resulta nas sapogeninas diosgenina e iamogenina, que após serem metabolizadas no trato digestivo dos animais vão resultar nas sapogeninas epismilagenina e episarsasapogenina, respectivamente, que são responsáveis pela formação dos cristais biliares (MEAGHER et al., 1996).

O Mecanismo provável para a formação dos cristais biliares envolve a hidrólise dos açúcares das saponinas pelo metabolismo ruminal, seguida pela redução da dupla ligação (C5-C6), epimerização do radical 3- $\beta$ -OH para 3- $\alpha$ -OH e, finalmente, conjugação com o ácido glicurônico. Os glicuronídeos de epismilagenina e episarsasapogenina ligam-se com os íons de cálcio e formam sais insolúveis que se depositam na forma de cristais (MILES et al., 1991).

Os cristais causam inflamação e obstrução do sistema biliar, além de necrose dos hepatócitos periportais resultando em icterícia, fotossensibilização e hepatite. Encontram-se, também, cristais aciculares nos hepatócitos, células de Kupffer e células dos túbulos renais (RADOSTITS et al., 2002).

O material cristalóide pode causar fotossensibilização e icterícia pelo bloqueio físico ao fluxo da bile, ou os metabólitos das saponinas podem causar uma colestase específica com ação similar ao Lantadene A (CRUZ et al., 2000).

Os animais ruminantes são mais resistentes aos efeitos de toxinas do que os animais monogástricos. Esta resistência muitas vezes pode estar relacionada ao metabolismo desses compostos tóxicos por microorganismos do rúmen ou através de sistemas enzimáticos de detoxificação no fígado (DAWSON & ALLISON, 1988).

Uma característica única dos animais ruminantes é a habilidade deles em adquirir tolerância ao aumento das concentrações de compostos tóxicos em alimentos. Em alguns casos essa tolerância adquirida pode ser relacionada à mudança na população da microbiota do rúmen que conduz ao aumento na taxa de degradação de toxinas. Tal mudança na população poderia ser considerada como um meio de adaptação às mudanças ambientais. Neste contexto, mudança na dieta induz a mudança do ambiente da microbiota do rúmen, conseqüentes mudanças de populações microbianas são processos adaptativos, que são importantes para a sobrevivência do animal (DAWSON & ALLISON, 1988).

Em muitos casos, os mecanismos que provocam essas mudanças adaptativas na população do rúmen podem ser atribuídos a processos seletivos que resultam em mudança no número e atividades de determinados grupos funcionais de microorganismos. Estudos

ecológicos de tais mudanças na população proporcionaram uma grande dose de discernimento sobre a dinâmica das populações microbianas no rúmen. Em algumas instâncias o sistema enzimático de microorganismos específicos associados com a detoxificação não tem sido identificado (DAWSON & ALLISON, 1988).

Os compostos tóxicos quando não são metabolizados pelos microrganismos do rúmen são absorvidas pelo intestino e têm seu primeiro contato no organismo com o fígado, que numa posição estratégica, impede a exposição do restante do organismo à ação de toxinas. Os sistemas enzimáticos de detoxificação hepática, como a citocromo P-450, atuam de forma rápida e têm ampla especificidade, dando ao animal a capacidade de suportar uma grande variedade de desafios causados por toxinas naturais e sintéticas (CHEEKE, 1994).

A insuficiência hepática ocorre somente em lesões difusas quando há comprometimento de 75% do parênquima hepático, como ocorre nas intoxicações, e não ocorre em lesões focais ou multifocais como, por ex., abscessos ou cistos (CHEEKE, 1994).

No Brasil, tem sido demonstrada a presença de saponinas esteroidais em amostras de capim e bile de ovinos em pastagem de *Brachiaria decumbens* (CRUZ et al., 2000; DRIEMEIER et al., 2002) comprovando-se que a toxicidade de *Brachiaria* spp ocorre devido à presença de saponinas esteroidais litogênicas (PIRES et al., 2002; HARAGUCHI et al., 2003; BRUM, 2006).

A intoxicação por *B. decumbens*, *B. humidicola*, *B. brizantha*, no Brasil, afeta bovinos (DRIEMEIER et al., 1998, 1999, 2002; LEMOS et al., 1996c,1997) e por *B. decumbens* afeta ovinos (LEMOS et al., 1996a; BRUM, 2006), caprinos (LEMOS et al., 1998) e bubalinos (ROZZA et al., 2004; OLIVEIRA, dados não publicados).

No estado do Pará tem sido diagnosticado surtos de fotossensibilização causados pela ingestão de *B. humidicola* em bubalinos, bovinos (Barbosa, dados não publicados) e eqüinos (BARBOSA et al., 2006) e pela ingestão de *B. brizantha* em bovinos (Barbosa, dados não publicados), ovinos (ALBERNAZ et al., 2008) e caprinos (SILVEIRA et al., 2009).

### **3.1. Epidemiologia:**

A intoxicação por *Brachiaria* spp. ocorre em qualquer época do ano, principalmente em bezerros, próximo ao desmame ou recém-desmamados. Os ovinos são mais suscetíveis à intoxicação do que os bovinos. Os animais jovens (cordeiros e bezerros) são mais suscetíveis do que os adultos. A intoxicação pode ocorrer também em animais lactentes, com menos de trinta dias de idade (LEMOS et al., 1996b).

Os animais introduzidos pela primeira vez em pastagem de *Brachiaria* spp. são mais suscetíveis a intoxicação, mas não se sabe se a maior resistência é por algum mecanismo de adaptação ou por que ao longo dos anos tem havido uma seleção natural dos animais mais resistentes (LEMOS et al., 1996b).

A brotação da planta, após a ocorrência anterior de queimadas ou secas prolongadas, tem sido associada a uma maior toxicidade. Menciona-se, também, a ocorrência de intoxicação quando os pastos são fechados por mais de trinta dias e após, são introduzidos os bovinos. Neste caso a doença parece ser mais grave, atinge bovinos de qualquer idade e observam-se mortes (BRUM et al., 2004).

Para ovinos as pastagens de *Brachiaria* spp. são aparentemente menos tóxica se forem mantida com pouco centímetro de altura, mediante pastejo intensivo e contínuo (BRUM et al., 2004).

Brum et al. (2009), verificaram que o nível de saponinas (isômeros protodioscina) em *B. brizantha* e *B. decumbens*, em diferentes fases de desenvolvimento em Goiás, variou de 0,53% a 2,09%, tendo o nível mais alto durante a maturação da planta, em comparação com as fases anteriores, o que sugere que a planta é mais tóxica durante esta fase.

Souza et al. (2006), confirmaram a presença de protodioscinas, através de cromatografia de camada delgada, e verificaram que esses isômeros nas folhas de *B. brizantha* e *B. decumbens*, do centro-oeste, possuem concentrações elevadas no período das chuvas em relação ao período da secas.

Segundo Meagher et al. (1996) e Oleszek (2002), a quantidade de saponina pode variar na mesma espécie de pastagem, quando são cultivadas em diferentes locais devido a vários fatores, tais como, o estresse ambiental, idade da planta e fase de desenvolvimento.

### **3.2. Sinais clínicos:**

Na fotossensibilização hepatógena em ovinos causada por *Brachiaria* spp. os sinais que têm sido observados inicialmente são procura pela sombra, edema da face e das orelhas; seguido por mucosas amareladas, dermatite acentuada (OPASINA, 1985; LEMOS et al., 1996a; ABDULLAH et al., 1988; GRAYDON et al., 1991) e, posteriormente, formação de crostas na região dos olhos, focinho e orelhas (LEMOS et al., 1996a; DRIEMEIER et al., 1998). Também são observados, em alguns casos, conjuntivite com corrimento ocular e cegueira (OPASINA, 1985; LEMOS et al., 1996a; CRUZ et al., 2000), estase ruminal (ABDULLAH et al., 1988) e diarreia (CRUZ et al., 2001). Tem sido registrada alteração no



crescimento e atividade dos microorganismos do rúmen refletindo numa menor concentração de ácidos graxos (ABDULLAH et al., 1992).

Em alguns casos, tem sido diagnosticado sintomas nervosos como incoordenação motora, andar em círculo (OPASINA, 1985; ABDULLAH et al., 1988), tremor da cabeça, letargia, olhar fixo, depressão, ataxia, paralisia dos membros anteriores e coma, antes da morte (OPASINA, 1985; ABDULLAH et al., 1988; LEMOS et al., 1996a; CRUZ et al., 2001).

A morte pode ocorrer após um período de um mês de pastoreio contínuo (ABDULLAH et al., 1988) ou 7-10 dias depois da aparição dos sinais clínicos (OPASINA, 1985; LEMOS et al., 1996a).

### **3.3. Achados bioquímicos:**

Brum et al. (2007), estudando um surto de fotossensibilização hepatógena em ovinos mantidos em pastagem de *Brachiaria decumbens* no Estado de Mato Grosso do Sul, verificaram que dois cordeiros com sinais clínicos e um cordeiro, aparentemente sem sinais clínicos, apresentaram elevação na atividade sérica de gama glutamil-transferase (GGT), nos valores de bilirrubina e colesterol.

Mendonça et al. (2008), também estudando um surto de fotossensibilização hepatógena em ovinos que pastavam *B. decumbens* observaram aumento nos níveis séricos de GGT, bilirrubina direta (BD), indireta BI e total (BT), e diminuição no nível de creatinina.

### **3.4. Achados de necropsia:**

As alterações observadas na necropsia caracterizam-se por coloração amarelada das membranas mucosas, serosas, órgãos, gordura omental e mesentérica. O tecido subcutâneo, além da coloração amarelada, apresenta edema de aspecto gelatinoso (BARRERA & OCHOA, 1977; OPASINA, 1985; ABDULLAH et al., 1988; GRAYDON et al., 1991; LEMOS et al., 1996a, 1997).

O fígado apresenta coloração amarelada (GRAYDON et al., 1991; LEMOS et al., 1996a, 1997, 1998), com áreas branco-amareladas de distribuição multifocal na superfície do órgão (ABDULLAH et al., 1988; LEMOS et al., 1996a; CRUZ et al., 2000; DRIEMEIER et al., 2002). A consistência fica aumentada (ABDULLAH et al., 1988; LEMOS et al., 1996a), com padrão lobular acentuado, um espessamento discreto a moderado de ductos biliares (LEMOS et al., 1996a) e degeneração gordurosa (OPASINA, 1985).

A vesícula biliar pode encontrar-se ligeiramente distendida, com bile escura e espessa (ABDULLAH et al., 1988; LEMOS et al., 1996a).

Os linfonodos hepáticos e mesentéricos apresentam-se com tamanho normal, estriações esbranquiçadas, forma radiada na cortical e medular, com pequenas áreas brancas nodulares multifocais na medular e, muitas vezes, associadas com focos hemorrágicos (DRIEMEIER et al., 1998).

Os rins, geralmente, estão aumentados de tamanho e com coloração esverdeada (ABDULLAH et al., 1988; GRAYDON et al., 1991),.

### **3.5. Achados histopatológicos:**

Na histopatologia as lesões predominantes ocorrem na pele, fígado e rim (GRAYDON et al., 1991).

As lesões de pele caracterizam-se por dermatite com necrose difusa da epiderme e hiperqueratose acompanhada por infiltrado inflamatório, predominantemente, neutrocitário na epiderme e derme, bem como dermatomiose hemorrágica são descritos (GRAYDON et al., 1991; LEMOS et al., 1996a).

No fígado, a colangite ou colangiohepatite é a alteração mais freqüente (DOBEREINER et al., 1976), podendo ser acompanhada de proliferação de ductos biliares (BARRERA & OCHOA, 1977; CRUZ et al., 2000; DRIEMEIER et al., 2002) e bilestase (LEMOS et al., 1996a).

É evidenciado, no fígado de bovinos, vacuolização citoplasmática de hepatócitos, megalocitose, proliferação conjuntiva, infiltrado celular inflamatório (ALESSI et al., 1994) e degeneração gordurosa intensa, mais acentuada na zona centrolobular (CAMARGO et al., 1976).

Um achado predominante na histopatologia do fígado tem sido a tumefação hepatocelular (BARRERA & OCHOA, 1977; DRIEMEIER et al., 2002); necrose individual de hepatócitos (ABDULLAH et al., 1988), mais acentuada na região centrolobular (FLAOYEN & SMITH, 1992); bem como, numerosos hepatócitos apresentando cariomegalia (LEMOS et al., 1996a). Também é observado, intensa formação de células com o citoplasma espumoso e núcleos periféricos que freqüentemente se agrupam e formam células multinucleadas, de distribuição aleatória (LEMOS et al., 1996a; DRIEMEIER et al., 1998) e células de Kupffer muito evidentes e numerosas (DOBEREINER et al., 1976).

Cristais birrefringentes opticamente ativos têm sido vistos na luz dos ductos ou canalículos biliares (LEMOS et al., 1996a; CRUZ et al., 2000), os quais também

apresentavam necrose de epitélio. Estas estruturas também são visualizadas nas células de Kupffer e nos hepatócitos (GRAYDON et al., 1991; RIET-CORREA et al., 2007).

Os linfonodos hepáticos e mesentéricos apresentam grande número de grupamentos de células com citoplasma espumoso e células multinucleadas semelhantes às descritas no fígado (LE MOS et al., 1996a; DRIEMEIER et al., 1998), associadas com áreas de necrose e hemorragia.

Nos rins têm sido observada tumefação e vacuolização do epitélio tubular, material amorfo eosinofílico nas células do epitélio, na luz dos túbulos distendidos e nos espaços de Bowman (GRAYDON et al., 1991).

No cérebro foi verificada substância branca com vacuolizações de diferentes tamanhos e adquirindo aparência esponjosa (ABDULLAH et al., 1988).

### **3.5. Tratamento e Controle:**

Em casos de aparecimento da doença na propriedade a primeira providência a ser tomada é retirar o rebanho da pastagem, onde se está observando o problema, evitando que continuem a ingerir a planta. A seguir, deve-se tratar sintomaticamente as lesões de pele e as alterações hepáticas dos animais doentes, pois ainda não existe um tratamento específico para a doença (MORTIMER et al., 1978; TOKARNIA et al., 2000).

A seleção de variedades de *Brachiaria* spp com menos conteúdo de saponinas seria a solução definitiva para o problema da toxicidade das espécies de *Brachiaria* spp. no Brasil (RIET-CORREA et al., 2007).

## 4- MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Área do estudo e animais:

Foram estudados dois surtos de fotossensibilização associados à ingestão de *Brachiaria brizantha* em ovinos e realizado um experimento com ovinos no mesmo tipo de pastagem em uma fazenda localizada no município de Santa Luzia do Pará (Fig. 1), mesorregião do Nordeste Paraense, estado do Pará. As coordenadas da área são 1°31'1''S e 46°56'31''W. Essa mesorregião possui um clima quente e úmido, com temperaturas médias variando de 25°C a 27°C e chuvas que ultrapassam 2000 mm/ano (IBGE, 2008).

Na ocasião dos surtos a fazenda foi visitada para observação dos sinais clínicos, levantamento dos dados epidemiológicos, colheita de amostras de pastagens, colheita de amostras de sangue e nos casos de morte, realização de necropsias com colheita de material para estudo histopatológico.

Para o experimento foram utilizados 50 cordeiros, mestiços das raças Santa Inês x Dorper, com idade variando de dois a três meses (Fig. 2). Esses cordeiros foram mantidos, durante um a dois meses, após o nascimento, em apriscos suspensos do chão (Fig. 3), permanecendo com as mães no período da noite e recebendo capim-elefante roxo (*Pennisetum purpureum*) cv. roxo, concentrado comercial para ovinos, sal mineral e água *ad libitum*. Após esse período foram introduzidos em um piquete de 12,5 ha de *B. brizantha* e receberam concentrado comercial para ovinos, sal mineral e água *ad libitum*.

Dentre esses 50 animais, 10 receberam 200 ml de fluido ruminal, que havia sido coado em gaze de três faces e administrado através de sonda oro-esofágica para pequenos ruminantes (Fig. 4), retirado de ovelhas mães do mesmo lote, cuja alimentação consistia em capim *Brachiaria brizantha*, a primeira administração foi feita um dia antes da introdução desses animais na pastagem, e mais duas subsequentes com intervalo de uma semana.

Os animais do experimento foram avaliados clinicamente e realizada colheita de sangue para dosagem dos níveis séricos de bilirrubinas (total, direta e indireta), AST, GGT, uréia e creatinina, um dia antes de serem introduzidos na pastagem e a cada sete dias após a introdução por um período de sete semanas.

### 4.2. Estudo epidemiológico:

Os dados epidemiológicos registrados, tanto no estudo dos surtos, quanto no experimento, foram: localização da propriedade; espécies de *Brachiaria* ou de outros gêneros presentes no piquete onde os animais pastavam; número e espécies de animais na propriedade;

idade e sexo dos animais; idade ao desmame; procedência dos animais; tempo de permanência dos animais na pastagem; tipo de pastejo; época em que ocorria a doença (seca ou chuvosa); área da pastagem; tempo de implantação da pastagem; estágio do capim; realização de adubação; ocorrência de fotossensibilização em épocas anteriores e condições que ocorreram as mesmas; frequência da enfermidade: morbidade e mortalidade.



**Fig. 1.** Propriedade onde ocorreram os surtos e o experimento de intoxicação em ovinos por capim *Brachiaria brizantha*.



**Fig. 2.** Lote de ovinos utilizado no experimento.



**Fig. 3.** Aprisco onde os animais eram mantidos antes da introdução na pastagem de *B brizantha*.



**Fig. 4.** Administração de suco de rúmen, através de sonda oro-esofágica, para um cordeiro do experimento.

#### 4.3. Exame clínico:

O exame clínico geral dos animais foi realizado na ocasião dos surtos, como também, um dia antes de serem introduzidos na pastagem e a cada sete dias após a introdução por um período de sete semanas, segundo as recomendações de Diffay (2004) (Fig. 5).

#### 4.4. Bioquímica hepática e renal:

Na ocasião dos surtos e a cada visita clínica ao experimento foram colhidas amostras de sangue, por venopunção da jugular com agulha 0,80x25 em tubos com vácuo sem anticoagulante (Fig. 6).

No laboratório, as amostras sanguíneas permaneceram em repouso à temperatura ambiente e, em seguida, foram centrifugadas à 3000 rotações por minuto, durante cinco minutos, para a retirada de soro sanguíneo. Dessas amostras determinaram-se os níveis de GGT, AST, BD, BI, BT, uréia e creatinina, usando kits colorimétricos através de espectrofotômetro (BioPlus - Bio - 2000), no laboratório de Patologia Clínica da Central de Diagnóstico Veterinário (CEDIVET) da Universidade Federal do Pará (UFPA), Castanhal-PA.



**Fig. 5.** Avaliação clínica de um cordeiro do experimento.



**Fig. 6.** Colheita de sangue de um cordeiro por venopunção da jugular em sistema à vácuo.

#### 4.5. Achados de necropsia:

Os animais do experimento que adoeceram foram retirados das pastagens para evitar mortes. Em caso de morte, tanto nos animais do experimento quanto nos animais dos surtos, foi realizada necropsia e colhidos fragmentos de diversos órgãos, os quais foram acondicionados em formol a 10%.

#### 4.6. Achados histológicos:

O material coletado durante a necropsia foi enviado para realização de exame histológico, sendo processado rotineiramente e corado pela Hematoxilina-Eosina (HE) no Setor de Anatomia Patológica Veterinária da CEDIVET/UFPA Castanhal-PA e no Setor de Anatomia Patológica do Convênio "Projeto Sanidade Animal Embrapa/Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro".

#### **4.7. Determinação dos níveis de saponinas em amostras da pastagem de *B. brizantha*:**

Foram colhidas amostras de capim *Brachiaria brizantha* no momento do atendimento clínico dos animais durante os surtos, antes da introdução dos animais no experimento e após a apresentação de sinais clínicos, para determinação do teor de saponinas qualitativamente, pelo método de cromatografia de camada delgada (GJULEMETOWA et al., 1982) e quantitativamente por HPLC utilizando o detector de evaporação por dispersão de luz (Evaporative Light Scattering Detector) (WANG et al., 2004). Estas análises foram realizadas no Laboratório de Química do Instituto Biológico de São Paulo.

#### **4.8. Contagem de esporos de *Pithomyces chartarum* em amostras da pastagem de *B. brizantha*:**

No momento da colheita de amostras do capim *Brachiaria brizantha* para dosagem do teor de saponinas, tanto no caso dos surtos, como do experimento, também foram colhidas amostras para contagem de esporos de *P. chartarum*, realizada através do “wash method” de acordo com Menna (1973) que consiste em agitar as folhas frescas, coletadas de manhã cedo, em recipiente contendo dez vezes o seu peso em água e em contar os esporos de 2mm<sup>3</sup> dessa água em uma lâmina de hematimetria. Cada esporo visto representa 5.000 esporos por grama de folhas frescas úmidas; esporos velhos não-tóxicos podem ser desconhecido por seu aspecto disforme e são descontados; 40 esporos contados por este método correspondem aos 200.000 esporos por grama de folhas frescas, valor esse que caracteriza o “período perigoso”.

#### **4.9. Análises estatísticas:**

Para o estudo de morbidade foi utilizado o teste Qui-quadrado com o intuito de verificar se as distribuições dos animais doentes, do grupo que receberam suco de rúmen e do grupo que não receberam suco de rúmen, eram semelhantes.

Para o estudo de letalidade foram avaliados somente os animais doentes e utilizado o teste exato de Fisher. Para os testes foi considerado o nível crítico de probabilidade de 5% ( $p < 0,05$ ) (CALLEGARI-JAQUES, 2003).

A análise de variância foi feita com base no teste F e para a comparação de médias foi usado o teste de Tukey, todos ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ). Para essas análises foi usado o programa NTIA versão 4.2.1 de outubro de 1995, desenvolvido pela EMBRAPA de Campinas.

## 5- RESULTADOS

### 5.1. INTOXICAÇÃO NATURAL

#### 5.1.1. Epidemiologia:

##### Surto 01.

Em uma fazenda localizada no município de Santa Luzia do Pará, no mês de outubro de 2008, correspondente a época seca na região, foi diagnosticado um surto de intoxicação por *Brachiaria brizantha* em um rebanho de 900 animais de todas as faixas etárias; no entanto, somente cordeiros, de ambos os sexos, com idade entre dois e três meses adoeceram.

Esses animais eram mestiços de ovelhas Santa Inês x carneiros Dorper, nascidos na própria fazenda; as mães e os pais eram adquiridos de outras propriedades do estado do Pará.

Esses cordeiros, desde o nascimento eram mantidos até um a dois meses de idade, em apriscos suspensos do chão, permanecendo com as mães durante à noite e recebendo capim-elfante roxo (*Pennisetum purpureum*) cv. roxo, concentrado comercial e sal mineral para ovinos e água *ad libitum*. Após esse período, os animais foram divididos em três lotes: lote 01 (43 cordeiros), lote 02 (40 cordeiros) e lote 03 (30 cordeiros) e introduzidos em piquetes com capim *B. brizantha*, medindo 12,5 hectares cada. O capim encontrava-se com massa residual reduzida e senescente (Fig. 7). Os animais recebiam concentrado comercial para ovinos, sal mineral e água *ad libitum*.

Segundo o tratador, após quinze dias de pastejo, durante oito horas por dia (8 às 16 horas), os animais começaram a apresentar sinais clínicos. Do lote 01, adoeceram 19 animais e morreram 15; do lote 02, adoeceram 18 e morreram 17; do lote 03, adoeceram 12 e morreram oito. A taxa de morbidade e letalidade nesse surto foi de 43,4% e 81,6%, respectivamente. A morte dos animais ocorreu, em média, após duas semanas do início dos sinais clínicos.

Nessa propriedade, a pastagem havia sido implantada a mais de quinze anos e nunca havia sido realizada adubação. No entanto, a criação de ovinos só foi iniciada seis anos após a implantação da pastagem.

Os tratadores não sabiam informar se haviam ocorrido surtos em épocas anteriores, visto que a troca dos mesmos era feita com frequência.



## **Surto 02.**

Esse surto ocorreu na mesma fazenda em que ocorreu o surto 01, no mês de janeiro de 2009, época de início das chuvas, porém em outro piquete de capim *Brachiaria brizantha* e em lote de animais diferentes do surto 01.

Após o surto 01 foi indicado ao proprietário que introduzisse os animais na pastagem com uma semana após o nascimento, junto com as mães, no entanto, os animais só foram introduzidos após 15 dias. Até então, eram mantidos em apriscos suspensos do chão, permanecendo com as mães no período da noite e recebendo capim-elefante roxo (*Pennisetum purpureum*) cv. roxo, concentrado comercial e sal mineral para ovinos, além de água *ad libitum*.

Esses animais, também, eram mestiços de ovelhas Santa Inês x carneiros Dorper, nascidos na própria fazenda. As mães e os pais eram adquiridos de propriedades da região nordeste do Brasil.

Após quinze dias de pastejo, semelhante ao surto 01, durante oito horas por dia, os animais começaram a apresentar sinais clínicos, dos 80 cordeiros, 13 adoeceram e 10 morreram. As taxas de morbidade e letalidade nesse surto foram 16,3% e 76,9%, respectivamente. A morte dos animais ocorreu, em média, após duas semanas do início dos sinais clínicos.

### **5.1.2. Sinais clínicos:**

Em ambos os surtos, os animais intoxicados por *Brachiaria brizantha* apresentavam frequência respiratória (FR) com média de 68 movimentos respiratórios por minuto (mrpm), frequência cardíaca (FC) com média de 166 batimentos por minuto (bpm) e temperatura retal com média de 40°C, estando esses valores dentro dos parâmetros considerados normais para a espécie.

Os sinais clínicos de fotossensibilização observados consistiam inicialmente em prurido, inquietação e fotofobia. Após, era observado edema nas orelhas (Fig. 8), nas pálpebras, no prepúcio (Fig. 9A) e na base da cauda (Fig. 9B); as mucosas eram amareladas e havia corrimento ocular e conjuntivite (Fig. 9C).

Na fase final, alguns animais apresentaram dermatite acentuada e posteriormente, formação de crostas na região dos olhos, focinho, orelhas (Fig. 10A), dorso e membros (Fig. 10B); depressão, apatia e anorexia.

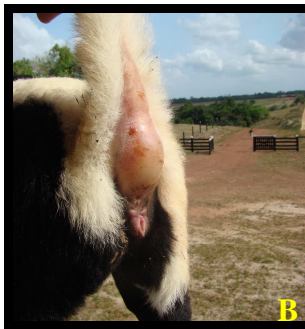
Na maioria das vezes, mesmo ao se retirar os animais doentes da pastagem, eles morriam.



**Fig. 7.** Pastagem de capim *B. brizantha*, com massa residual reduzida e senescente, na qual foram introduzidos os animais do surto 01.



**Fig. 8.** Edema auricular em um cordeiro intoxicado por *B. brizantha*, evidenciado pelo teste de Godet positivo.



**Fig. 9.** Intoxicação natural por *Brachiaria brizantha* em ovinos. (A) Edema prepucial. (B) Edema na base da cauda. (C) Esclera amarelada, corrimento e retração do globo ocular.



**Fig. 10.** Intoxicação natural por *Brachiaria brizantha* em ovinos. (A) Dermatite acentuada com perda de pele na região dos olhos, orelhas, focinho e (B) membros.

### 5.1.3. Bioquímica hepática e renal:

Os achados bioquímicos das funções hepática e renal dos animais com fotossensibilização associada à ingestão de *Brachiaria brizantha* nos surtos 01 e 02 encontram-se na Tabela 01. Onde se pode notar que os valores de uréia, creatinina, AST, GGT, BD, BI e BT apresentam aumento, quando comparados com os valores de referência.

### 5.1.4. Achados de necropsia:

As alterações macroscópicas encontradas na necropsia, nos surtos 01 e 02, caracterizaram-se por coloração amarelada das membranas mucosas, serosas, órgãos, gordura omental e mesentérica (Fig. 11). O tecido subcutâneo, além da coloração amarelada, apresentava-se com edema de aspecto gelatinoso.

O fígado apresentava consistência aumentada, coloração amarelada, padrão lobular acentuado e degeneração gordurosa (Fig. 12).

A vesícula biliar estava distendida (Fig. 13), com bile escura e espessa.

Os rins estavam aumentados de tamanho e com coloração amarelada (Fig. 14).



**Fig. 11.** Carcaça com coloração amarelada, de um ovino intoxicado por *B. brizantha*.



**Fig. 12.** Fígado com coloração amarelada e padrão lobular acentuado, de um ovino intoxicado por *B. brizantha*.

### 5.1.5. Achados histológicos:

No exame histopatológico, as principais alterações foram observadas no fígado, e caracterizaram-se por leve proliferação das vias biliares nos espaços porta e de macrófagos; presença de macrófagos multinucleados; necrose incipiente e leve megalocitose de hepatócitos isolados; presença de hepatócitos binucleados e de cristais em macrófagos e hepatócitos.



Nos rins foram observadas leves alterações degenerativas das células epiteliais dos túbulos uriníferos, sob a forma de tumefação.

#### **5.1.6. Determinação dos níveis de saponinas em amostras da pastagem de *B. brizantha*:**

Foram determinados dois tipos de saponinas nas amostras de *Brachiaria brizantha* dos surtos 01 e 02, a metilprotodioscina e protodioscina. O nível de saponina no surto 01 e 02 foram 0,92% e 0,88%, respectivamente, não apresentando diferença estatística significativa ( $p < 0,00001$ ) (Tab.02).



**Fig. 13.** Vesícula biliar distendida, de um ovino intoxicado por *B. brizantha*.



**Fig. 14.** Rim com coloração amarelada e aumentado de tamanho, de um ovino intoxicado por *B. brizantha*.

#### **5.1.7. Contagem de esporos de *Pithomyces chartarum* em amostras da pastagem de *B. brizantha***

A contagem de esporos de *P. chartarum* antes e após a ocorrência da doença, realizada através do “wash method”, revelou em ambos os surtos a presença de dois esporos, que representa 10.000 esporos por grama de folhas frescas úmidas.

**TAB. 01. Valores bioquímicos da função renal e hepática dos ovinos do surto 01 e surto 02.**

VARIÁIVES	VALORES DE REFERÊNCIA*	UNIDADE	SURTO 01		SURTO 02	
			Méd**	DP***	Méd	DP
Uréia	17-43	mg/dL	61,73	15,63	60,08	14,13
Creatinina	1,2-1,9	mg/dL	2,48	0,99	2,44	0,95
AST	0-90	UI/L	388,17	200,01	378,14	198,45
GGT	0-32	UI/L	89,12	68,12	90,23	65,12
BD	0-0,27	mg/dL	1,65	1,78	1,68	1,75
BI	0,1-0,23	mg/dL	1,38	1,63	1,36	1,49
BT	0,1-0,5	mg/dL	3,03	3,02	3,04	3,01

\*KANEKO (1997)

\*\*Média

\*\*\*Desvio Padrão

**TAB. 02. Níveis e tipos de saponinas encontradas em amostras de *Brachiaria brizantha*, onde pastavam os animais do surto 01 e 02.**

CAPIM	SURTOS	NÍVEL DE SAPONINA	TIPOS DE SAPONINAS	
			METILPROTODIOSCINA	PROTODIOSCINA
<i>B. brizantha</i>	01	0,92%	X	X
<i>B. brizantha</i>	02	0,88%	X	X

## 5.2. INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL

### 5.2.1. Epidemiologia:

O experimento ocorreu no período de novembro a dezembro de 2008, época que corresponde a baixos índices pluviométricos na região nordeste do estado do Pará. Nessas circunstâncias a pastagem se encontrava com massa residual reduzida e senescente.

Dentre os 50 cordeiros do experimento, um foi excluído por motivo de morte por traumatismo, no início do experimento. Sete dias após a introdução dos 49 cordeiros na pastagem, três dos que não receberam fluido ruminal apresentaram sinais clínicos de fotossensibilização.

No decorrer do experimento, dos 39 animais que não receberam fluido ruminal, 31 (79,5%) adoeceram. Desses, 28 (90,3%) morreram e três (9,7%) se recuperaram. A média de evolução clínica desses animais foi de aproximadamente 11 dias. Dos 10 animais que receberam fluido ruminal, três (30%) adoeceram, desses, todos morreram (100%), não havendo recuperação. A evolução clínica desses animais foi de aproximadamente 13 dias.

Os índices de morbidade dos animais que receberam fluido ruminal são estatisticamente inferiores aos observados nos animais que não receberam o fluido, tendo em vista o teste qui quadrado  $\chi^2$  ( $p < 0,000001$ ).

Os índices de letalidade dos animais que não receberam o fluido ruminal, quando comparado aos animais que receberam, não têm diferença estatística significativa, tendo em vista o teste exato de Fisher ( $p < 0,00001$ ).

### 5.2.2. Sinais clínicos:

Antes dos animais serem introduzidos na pastagem de *Brachiaria brizantha* apresentavam estado geral bom, com FR média de 45 mrpm, FC média de 100 bpm e temperatura retal com média de 39,5°C. Ao adoecerem, os animais apresentaram FR média de 60 mrpm, FC média de 160 bpm e temperatura retal de 40°.

Os sinais clínicos de fotossensibilização observados nos animais consistiam, inicialmente, em prurido, inquietação e fotofobia. Algumas vezes os cordeiros eram encontrados dentro de bueiros (Fig. 15), embaixo dos apriscos e na encosta de árvores à procura de sombra. Em seguida, apresentavam edemas nas orelhas, pálpebras, base da cauda e prepúcio; icterícia; conjuntivite, com corrimento ocular e cegueira.

Na fase final, os animais apresentaram lesões cutâneas que inicialmente se caracterizava por dermatite acentuada e, posteriormente, formação de crostas na região dos

olhos, focinho, orelhas, dorso e membros; cólica; depressão; apatia; anorexia e morte, na maioria das vezes, mesmo ao se retirar os animais doentes da pastagem eles morriam. Os que não morriam demoravam a recuperar as lesões da pele (Fig. 16).

Alguns animais apresentaram sinais clínicos nervosos como incoordenação motora, tremor da cabeça, letargia, ataxia, depressão e coma antes da morte.



**Fig. 15.** Cordeiro intoxicado por *B. brizantha* dentro de um bueiro na tentativa de se proteger dos raios solares.



**Fig. 16.** Cordeiro em fase de recuperação da intoxicação por *B. brizantha*, notar alopecia.

### 5.2.3. Bioquímica hepática e renal:

Os achados bioquímicos da função hepática e renal dos animais que não receberam fluido ruminal e dos que receberam se encontram nas tabelas 03 e 04, respectivamente.

De maneira geral, os achados bioquímicos foram menores nos animais que receberam o fluido ruminal em comparação aos que não receberam ( $p < 0,0001$ ). No entanto, os valores de uréia e GGT dos animais que receberam fluido ruminal e dos que não receberam foram semelhantes estatisticamente, já os valores de creatinina e a AST foram estatisticamente menores ( $p < 0,0001$ ) nos animais que receberam fluido ruminal, em comparação aos que não receberam (Fig. 17).

Comparando os valores da BD, BI e BT, foi possível verificar que de uma forma geral os valores foram menores nos animais que receberam o fluido ruminal, em comparação aos que não receberam, mas essa diferença varia ao longo dos dias do experimento (Fig. 17).

#### 5.2.4. Achados de necropsia

As alterações macroscópicas encontradas na necropsia caracterizaram-se por coloração amarelada das membranas mucosas, serosas, órgãos, gordura omental e mesentérica. O tecido subcutâneo, além da coloração amarelada, apresentava-se com edema de aspecto gelatinoso.

O fígado apresentava consistência aumentada, coloração amarelada, padrão lobular acentuado e degeneração gordurosa.

A vesícula biliar encontrava-se distendida, com bile escura e espessa.

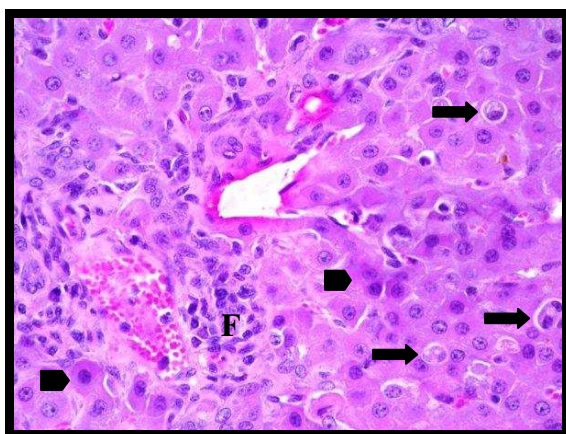
Nos rins foi observada coloração amarelo-esverdeado e aumento de tamanho.

#### 5.2.5. Achados histológicos:

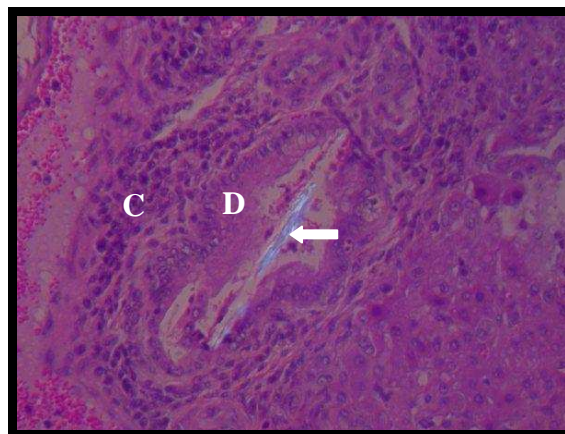
As alterações histológicas ocorreram principalmente no fígado e foram bastante uniformes, e podem ser descritas como leve proliferação das vias biliares nos espaços porta, proliferação de macrófagos, leve megalocitose de hepatócitos, presença de hepatócitos binucleados, presença de macrófagos espumosos, necrose incipiente de hepatócitos isolados (Fig. 17), colangite, presença de cristais em macrófagos e hepatócitos (Fig. 18).

Nos rins foram observadas leves alterações degenerativas das células epiteliais dos túbulos uriníferos, sob a forma de tumefação.

Na pele de um animal com lesão foram observadas áreas de necrose.



**Fig. 17.** Espaço porta com discreta fibrose (F), necrose individual de hepatócitos (cabeça de seta) e presença de macrófagos espumosos em sinusóides (seta). HE, obj. 20x.



**Fig. 18.** Ducto biliar (D) envolto por colangite mononuclear (C) e com presença de cristal refringente sob luz polarizada no seu interior (seta). HE, obj. 40x.



#### **5.2.6. Determinação dos níveis de saponinas em amostras da pastagem de *B. brizantha*:**

Foram determinados dois tipos de saponinas nas amostras de *Brachiaria brizantha* do caso experimental, a metilprotodioscina e protodioscina. O nível de saponina no decorrer do experimento variou de 1,13% a 1,62% (Tab.05).

#### **5.2.7. Contagem de esporos de *Pithomyces chartarum* em amostras da pastagem de *B. brizantha*:**

A contagem de esporos de *P. chartarum* antes e após a ocorrência da doença, realizada através do “wash method”, revelou a presença de um esporo, que representa 5.000 esporos por grama de folhas frescas úmidas.

**TAB. 03. Valores bioquímicos da função renal e hepática de ovinos, que não receberam fluido ruminal, antes e após a introdução na pastagem de *B. brizantha*.**

VARIÁVEIS	REFERÊNCIA*	DIAS DAS COLETAS															
		0		7		12		17		21		29		36		49	
		Méd**	DP****	Méd	DP	Méd	DP	Méd	DP	Méd	DP	Méd	DP	Méd	DP	Méd	DP
<b>Uréia (mg/dL)</b>	17-43	47,92	10,19	25,54	11,26	63,69	44,16	60,73	34,63	79,6	37,39	70,71	38,39	53,4	20,13	42,55	11,41
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	1,2-1,9	1,59	0,32	1,63	0,48	2,22	1,2	2,38	0,91	2,77	1,12	2,55	1,11	2,17	0,59	1,67	0,3
<b>AST (UI/L)</b>	0-90	136,79	24,11	169,05	165,78	193,81	157,86	355,97	278,31	448,4	334,89	334,05	256,9	295,4	312,2	163,45	59,85
<b>GGT (UI/L)</b>	0-32	53,03	10,62	47,82	27,2	61,64	46,28	88,15	67,00	137,17	86,68	120,52	72,6	87,6	66,27	69,73	54,51
<b>BD (mg/dL)</b>	0-0,27	0,17	0,11	0,23	0,34	0,79	0,95	1,61	1,66	2,09	2,05	1,26	1,94	1,06	2,34	1,84	2,88
<b>BI (mg/dL)</b>	0,1-0,23	0,23	0,26	0,25	0,2	0,45	0,48	1,36	1,53	1,93	1,97	0,98	1,67	0,76	1,23	1,2	1,06
<b>BT (mg/dL)</b>	0,1-0,5	0,4	0,27	0,48	0,41	1,24	1,33	2,97	3,07	4,02	3,65	2,24	3,35	1,82	3,12	3,04	3,19

\*KANEKO (1997)

\*\*Média

\*\*\*Desvio Padrão

**TAB. 04.** Valores bioquímicos da função renal e hepática de ovinos, que receberam fluido ruminal, antes e após a introdução na pastagem de *B. brizantha*.

VARIÁVEIS	REFERÊNCIA*	DIAS DAS COLETAS															
		0		7		12		12		21		29		36		49	
		Méd**	DP***	Méd	DP	Méd	DP	Méd	DP	Méd	DP	Méd	DP	Méd	DP	Méd	DP
Uréia (mg/dL)	17-43	50,3	5,76	22,6	6,45	41,6	18,47	42,33	20,45	66,67	33,03	53,63	10,8	44,5	7,95	44,14	14,65
Creatinina (mg/dL)	1,2-1,9	1,6	0,24	1,38	0,46	1,59	0,47	1,89	0,52	2,4	1,02	2	0,22	1,93	0,12	1,8	0,22
AST (UI/L)	0-90	120,2	14,27	116,6	22,58	112,9	65,05	209,89	191,23	243,11	245,14	216,75	261,13	140	78,57	115,86	29,53
GGT (UI/L)	0-32	49,9	7,76	46	8,45	40,4	12,3	47,89	50,08	77,67	49,39	111,88	76,75	55,5	18,09	65	17,44
BD (mg/dL)	0-0,27	0,25	0,18	0,13	0,09	0,36	0,33	1,24	2,18	0,37	0,64	0,43	0,96	0,13	0,09	3,66	2,65
BI (mg/dL)	0,1-0,23	0,23	0,16	0,28	0,19	0,28	0,15	0,96	1,35	0,5	0,83	0,56	0,96	0,29	0,2	1,76	0,8
BT (mg/dL)	0,1-0,5	0,48	0,27	0,41	0,24	0,64	0,39	2,2	3,44	0,87	1,44	0,99	1,92	0,41	0,27	1,98	0,92

\*KANEKO (1997)

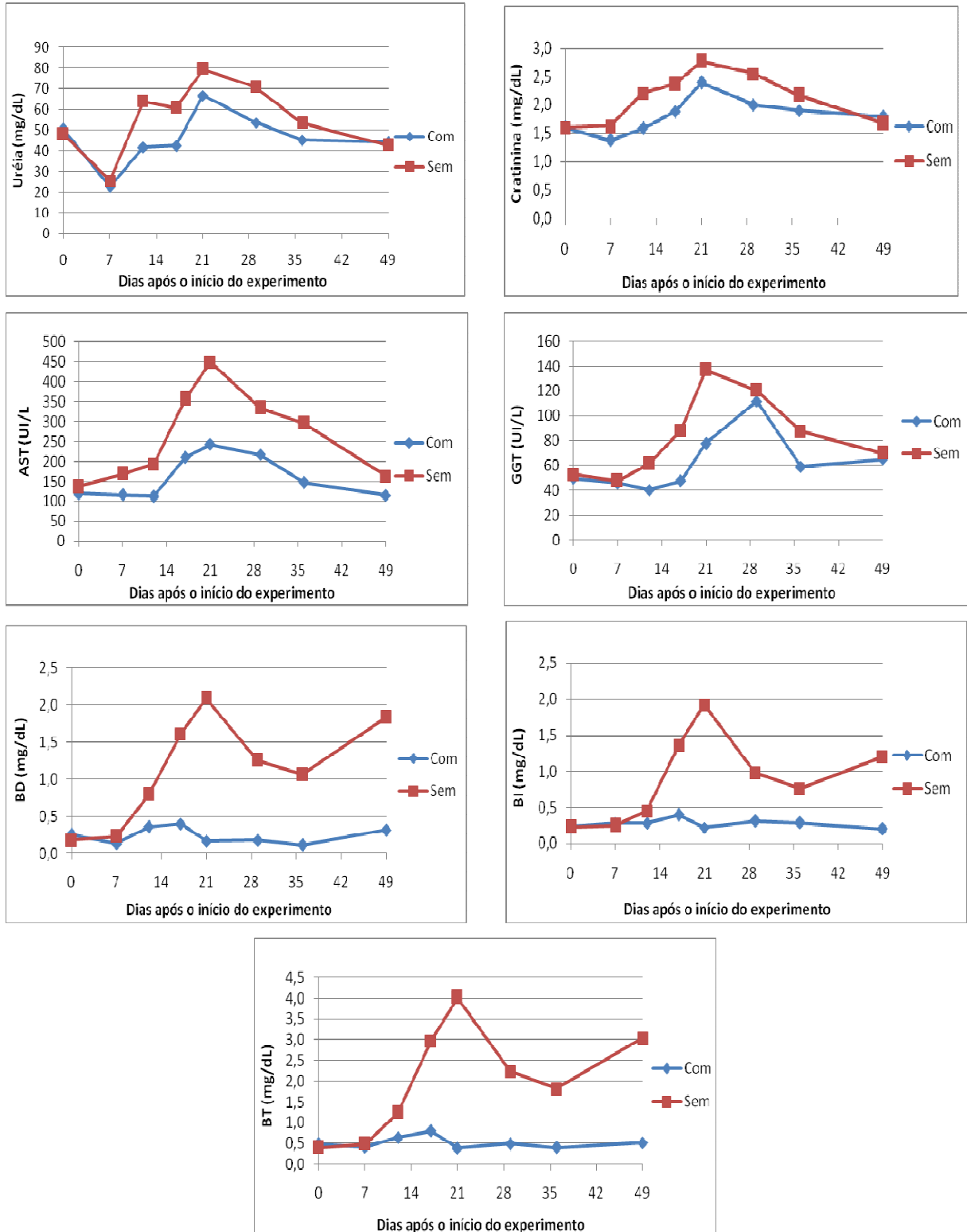
\*\*Média

\*\*\*Desvio Padrão

**TAB. 05.** Níveis e tipos de saponinas encontradas no decorrer do experimento nas amostras de *Brachiaria brizantha*, onde pastavam os animais.

CAPIM	DIAS DO EXPERIMENTO	NÍVEL DE SAPONINA	TIPOS DE SAPONINAS	
			METILPROTODIOSCINA	PROTODIOSCINA
<i>Brachiaria brizantha</i>	0	1,13%	X	X
<i>Brachiaria brizantha</i>	7	1,15%	X	X
<i>Brachiaria brizantha</i>	18	1,62%	X	X

**Fig. 19.** Valores médios de uréia, creatinina, aspartato aminotransferase (AST), gama glutamiltransferase (GGT), bilirrubina direta (BD), bilirrubina indireta (BI) e bilirrubina total (BT), ao longo do período do experimento, dos animais que receberam o fluido ruminal (Com) e dos animais que não receberam (Sem).



## 6. DISCUSSÃO

O diagnóstico de fotossensibilização associada à ingestão de capim *Brachiaria brizantha* nos surtos (01 e 02) baseou-se, principalmente, na epidemiologia e sinais clínicos apresentado pelos animais; foi confirmado através dos achados bioquímicos e histopatológicos, bem como, pela quantidade insignificante do fungo *Pithomyces chartarum* e pela presença de saponinas litogênicas esteroidais na pastagem estudada, como descrito por outros autores (OPASINA, 1985; SALAM ABDULLAH et al., 1988; LEMOS et al. 1996a).

Através da experimentação, confirmou-se a toxicidade da *B. brizantha* para ovinos, visto que os animais apresentaram os mesmos sinais clínicos, achados patológicos e patologia clínica dos animais intoxicados naturalmente. Além disso, havia presença de saponinas litogênicas esteroidais na pastagem *B. brizantha* e o fungo *Pithomyces chartarum* estava presente em quantidades insignificantes.

Foi verificado que os animais jovens, dos surtos, foram mais sensíveis do que os adultos à intoxicação pelo capim *B. brizantha*, visto que somente os cordeiros adoeceram, quando comparados com os adultos. Os cordeiros do experimento também foram muito sensíveis à intoxicação, apresentando sinais clínicos severos, estando de acordo com o observado por Lemos et al. (1996a).

Os cordeiros do experimento que não receberam fluido ruminal, apresentaram altas taxas de morbidade (79,5%) e letalidade (90,3%). Essas altas taxas, que também foram observadas no surto 01, de 43,3% e 81,6%, respectivamente, devem-se provavelmente ao fato dos animais terem sido mantidos em apriscos desde o nascimento até 60 dias de idade e posteriormente introduzidos na pastagem de *B. brizantha*, o que possivelmente não possibilitou uma adaptação prévia, visto que a taxa de morbidade diminuiu consideravelmente para 16,3% no surto 02, após ser recomendado ao proprietário que introduzisse os animais na pastagem poucos dias após o nascimento.

De acordo com Brum et al. (2004) animais introduzidos pela primeira vez em pastagem de *Brachiaria* spp. são mais suscetíveis a intoxicação, mas não se sabe se a resistência é por algum mecanismo de adaptação ou por que ao longo dos anos tem havido uma seleção natural dos animais mais resistentes.

Os isômeros de protodioscina determinados nas amostras de *Brachiaria brizantha* neste estudo, confirmam o que já foi observado em diversas regiões do Brasil, que as pastagens de *Brachiaria* spp. são responsáveis por surtos de fotossensibilização hepatógena, causados por saponinas esteroidais litogênicas (BRUM et al., 2009, SOUZA et al., 2006).

Foi verificada maior quantidade de saponina no capim *B. brizantha* no período seco, o que está de acordo com o observado por Souza et al. (2006), e com o capim em fase de maturação, como demonstrado por Brum et al. (2009). Nessa época o capim se encontrava com poucos centímetros de altura e o pastejo era intensivo, diferente do observado por Brum (2004), que verificaram que nessas condições o capim é menos tóxico para ovinos.

A quantidade de saponina pode variar na mesma espécie de pastagem devido a vários fatores, tais como o estresse ambiental, idade da planta e a fase de desenvolvimento (OLESZEK, 2002). Isso, de certa forma, pode explicar a variação na quantidade saponina observada no decorrer do experimento.

A diminuição na taxa de morbidade, estatisticamente significativa ( $p < 0,0001$ ), e os menores valores observados na bioquímica dos animais que receberam fluido ruminal, em comparação aos animais que não receberam, podem ser justificados pela administração do fluido ruminal das mães que provavelmente já estavam adaptadas aos compostos tóxicos presentes no capim *B. brizantha*, já que as mesmas não adoeceram, esse fluido pode ter induzido à mudança na população microbiana do rúmen dos cordeiros, auxiliando na degradação de compostos tóxicos presentes no capim *B. brizantha*, que os mesmos pastavam. Estando de acordo com o relatado por Dawson & Allison (1988); segundo esses autores, a mudança na população microbiana do rúmen pode ser considerada como um meio de adaptação.

O aumento nos valores de AST, GGT e bilirrubina são justificadas pelas alterações histopatológicas encontradas no fígado, demonstrando claramente que se trata de fotossensibilização de origem hepática. De acordo com Seawright et al. (1978), o aumento da AST está relacionado à necrose dos hepatócitos, visto que essa é uma enzima citoplasmática e mitocondrial presente no fígado e em outros tecidos. Enquanto isto, o aumento da atividade da GGT está relacionado à colestase intra e extra-hepática e com a proliferação de ductos biliares, por ser uma enzima originária das membranas dos canalículos e ductos biliares.

De acordo com Smith (2002), o aumento no valor da bilirrubina conjugada resulta em icterícia mais pronunciada que a causada por quantidade similar de bilirrubina não conjugada; daí o resultado de que a icterícia mais pronunciada é geralmente observada nos casos de lesão obstrutiva biliar ou hepática.

As características clínicas apresentadas por ovinos intoxicados por capim *B. brizantha*, nesse estudo, foram semelhante às encontradas na intoxicação por outras espécies de *Brachiaria* por outros autores (OPASINA, 1985; ABDULLAH et al., 1988; LEMOS et al., 1996a; DRIEMEIER et al., 1998; CRUZ et al., 2001).

Um aspecto digno de nota foram os sinais clínicos neurológicos apresentados por alguns dos animais intoxicados, também observados por Abdullah et al. (1988), Lemos et al. (1996a) e Cruz et al. (2001). Isso pode ter ocorrido porque, normalmente, substâncias tóxicas como a amônia, ácidos graxos de cadeias curtas e mercaptanos são eliminadas quando passam pelo fígado, o que não ocorre quando há lesão hepática difusa grave com insuficiência hepática; em consequência essas substâncias podem chegar ao encéfalo e como falsos neurotransmissores causar vários sinais clínicos neurológicos (KELLY, 2002).

Os achados patológicos neste estudo são corroborados pelos descritos por Graydon et al., (1991), Lemos et al. (1996a), Driemeier et al. (1998) e Cruz et al. (2001), na intoxicação por outras espécies de *Brachiaria* em ovinos.

Um achado importante na histologia do fígado dos ovinos intoxicados por *B. brizantha*, foi a presença de material cristalóide no sistema biliar e colangite. Segundo Miles et al. (1991) e Cruz et al. (2001), esses achados associados a sinais clínicos de fotossensibilização, indicam a presença de saponinas esteroidais na pastagem, o que foi confirmado através da pesquisa dessas substâncias na pastagem de *B. brizantha* dos animais do experimento e dos surtos.

## 7. CONCLUSÕES

O capim *B. brizantha* foi tóxico para ovinos;

O capim *B. brizantha* contém saponinas;

A concentração de saponinas *B. brizantha* foi maior na época seca em comparação com o início da época chuvosa;

Os animais jovens foram mais sensíveis à intoxicação por *B. brizantha* do que os animais adultos;

Os animais que receberam fluido ruminal foram mais resistentes a intoxicação por *B. brizantha* do que os animais que não receberam.

Os sinais clínicos apresentados pelos animais dos surtos e do experimento, associados à epidemiologia, auxiliaram no diagnóstico de intoxicação por *B. brizantha*;

O quadro clínico e patológico da intoxicação por *B. brizantha* foi semelhante ao da intoxicação por outras espécies de *Brachiaria*.



## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDULLAH, A.S.; LAJIS, N.N.; BREMNER, J.B.; DAVIES, N.W.; MUSTAPHA, W.; RAJION, M.A. Hepatotoxic constituents in the rumen of *Brachiaria decumbens* intoxicated sheep. **Vet. Hum. Toxicol.** v. 34, n. 2, p. 154-155. 1992.
- ABDULLAH, A.S.; NORDIN, M.M.; RAJION, M.A. Signal grass (*Brachiaria decumbens*) toxicity in sheep: changes in motility and pH of reticulo-rumen. **Vet. Hum. Toxicol.** v. 30, n. 3, p. 256-258. 1988.
- ALBERNAZ, T. T. ; SILVEIRA, J. A. S. ; REIS, A. B. ; OLIVEIRA C.H.S. ; OLIVEIRA, C. M. C. ; DUARTE, M. D. ; CERQUEIRA, V. D. ; RIET-CORREA, G. ; BARBOSA NETO, J. D. Fotossensibilização em ovinos associada à ingestão de *Brachiaria brizantha* no Pará. In: ENCONTRO NACIONAL DO DIAGNÓSTICO VETERINÁRIO, 2008, Campo Grande. **Anais do Encontro Nacional De Diagnóstico Veterinário 2008.** Campo Grande: Ed. Oeste, 2008. p. 73-74.
- ALESSI, A.C., FAGLIARI J.J., OKUDA H.T., PASSIPIERI M. Intoxicação natural de bovinos pela micotoxina esporidesmina - Lesões hepáticas. **Arq. Bras. Vet. Zoot.**, v. 46, n. 4, p. 319-328. 1994.
- BARBOSA, J.D.; OLIVEIRA, C.M.C.; TORKARNIA, C.H.; PEIXOTO, P.V. Fotossensibilização hepatógena em equinos pela ingestão de *Brachiaria humidicola* (Gramineae) no Estado do Pará. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 26, n. 3, p. 147-153. 2006.
- BARRERA, J.M. & OCHOA, R. *Brachiaria decumbens* y fotossensibilizacion. **Rev. ICA – Bogotá (Colombia)**. n. 3, p. 231-240. 1977.
- BLAKISTON, P. **Dicionário Médico Blakiston.** 2. ed. São Paulo: Andrei. 1169 p. 1979.
- BRUM, K.B. **Papel das saponinas e do *Pithomyces chartarum* como agentes hepatotóxicos para ruminantes em sistemas de pastejo.** 2006. 93f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2006.
- BRUM, K.B.; HARAGUCHI, M.; GARUTTI, M.B.; NÓBREGA, F.N.; ROSA, B.; FIORAVANTE, M.C. Análise semiquantitativa da saponina protodioscina do ciclo vegetativo de *Brachiaria decumbens*. **Pesq. Vet. Bras.** 24 (supl.): p. 13-14. 2004.
- BRUM, K.B.; HARAGUCHI, M.; LEMOS, R. A.A.; RIET-CORREA, F.; FIORAVANTI, M.C.S. Colangiopatia associada a cristais em ovinos alimentados com *Brachiaria decumbens* que contém a saponina protodioscina. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 27, n. 1, p.39-42. 2007.

- BRUM, K.B.; HARAGUCHI, M.; GARUTTI, M.B.; NÓBREGA, F.N.; ROSA, B.; FIORAVANTE, M.C. Steroidal saponin concentrations in *Brachiaria decumbens* and *B. brizantha* at different developmental stages. **Ciência Rural**, v. 39, n. 1, p. 279-281. 2009.
- CALLEGARI-JACQUE, S.D. **Bioestatística – princípios e aplicações**. Porto Alegre, Artmed, 2003. 255p.
- CAMARGO, W.V.A.; NAZÁRIO, W.; FERNANDES, N.S.; AMARAL, R.E.M. Fotossensibilização em bovinos de corte. Provável participação do fungo *Pithomyces chartarum*, na etiologia do processo. **O Biológico**, v. 42, n. 11,12, p. 259-261. 1976.
- CHEEKE, P.R. A review of the functional and evolutionary roles of the liver in the detoxification of poisonous plants, with special reference to pirrolizidine alkaloids. **Vet. Human Toxicol.** v. 36, p. 240-247. 1994.
- CLARE, N.T. Photosensitization in animals. **Vet. Sci.**, v. 2, p. 182-211. 1955.
- CRUZ, C.; DRIEMEIER, D.; PIRES, V.S.; COLODEL, E.M.; TAKETA, A.T.C.; SCHENKEL, E.P. Isolation of steroidal sapogenins implicated in experimentally induced cholangiopathy of sheep grazing *Brachiaria decumbens* in Brazil. **Vet. Human Toxicol.**, v. 42, n.3, 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, p. 170-172. 2001.
- DAWSON, K.A. & ALLISON, M.J. Digestive Disorders and nutritional toxicity. In: HOBSON, P.N. **The rumen microbial ecosystem**. New York. Elsevier Applied Science. 1988. p. 445-459.
- DIAS-FILHO, M.B. & ANDRADE, C.M.S. **Pastagens no trópico úmido**. Embrapa Amazônia Oriental, Belém Pará, Doc. 241, 30p. 2006.
- DIFFAY, B.C.; MCKENZIE, D.; WOLF, C.; PUGH, D.G. Abordagem e exame de ovinos e caprinos. In: PUGH, D.G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, p. 1-19, 2004.
- DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, H.; MONTEIRO, M.C.C.; CRUZ, L.C.H.; CARVALHO, E.G.; PRIMO, A.T. Intoxicação de bovinos e ovinos em pastos de *Brachiaria decumbens* contaminados por *Pithomyces chartarum*. **Pesq. Agrop. Bras.**, n. 11, p. 87-94. 1976.
- DRIEMEIER, D.; BARROS, S.S.; PEIXOTO, P.V.; TOKARNIA, C.H.; DOBEREINER, 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, n.1, p.29-34. 1998.

- DRIEMEIER, D.; COLODEL, E.M; SEITZ, A.L; BARROS, S.S.; CRUZ, C. Study of experimentally induced lesions in sheep by grazing *Brachiaria decumbens*. **Toxicon**, v.40, n.7, p.1027-1031. 2002.
- DRIEMEIER, D.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO, P.V.; BRITO, M.F. Relação entre macrófagos espumosos (“foam cells”) no fígado de bovinos e a ingestão de *Brachiaria spp.* no Brasil. **Pesq. Vet. Bras.** v.19, n.2, p.79-83. 1999.
- DRUDI A., GUIMARÃES D.M.; MELO, W.R. **Recuperação de pastagens degradadas de *Brachiaria decumbens* nos cerrados do sudoeste goiano – Diagnóstico de deficiências nutricionais.** Goiânia-GO: Empresa Goiana de Pesquisa Agropecuária, Comunicado Técnico, 9p. 1995.
- FERRAZ, J.V. & FIGUEIREDO JR, G.A. **Breve histórico da pecuária no Brasil.** 2003. Disponível em: < <http://www.sic.org.br/producao.asp>>. Acesso em: 15 de outubro de 2008.
- FIORAVANTE, M.C. **Incidência, avaliação clínica, laboratorial e anatomopatológica da intoxicação subclínica por esporidesmina em bovinos.** 1999. 93 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu. 1999.
- FLAOYEN, A. & SMITH, B.L. Parenchymal injury and biliary obstruction in relation to photosensitization in sporidesmin-intoxicated lambs. **Vet. Res. Com.**, v. 16, p. 337-344. 1992.
- GJULEMETOWA, R.; TOMOWA, M.; SIMOWA, M.; PANGAROWA, T.; PEEWA, S. Über die Bestimmung von Furostanolsaponinen im Präparat Tribestan®. **Pharmazie**, v.37, p.296. 1982.
- 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.
- HARAGUCHI, M. ; CUNHA, H.A.; MIMAKI, Y.; BRUM, K.B.; LEMOS, R.A.A.; YOKOSUKA, A.; SASHIDA, Y. Furostanol glicosídicos nas folhas de *Brachiaria decumbens*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 26, 2003, Poços de Caldas. **Anais 26º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, p. 66. 2003.
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Rebanho efetivo.** 2007. Disponível em <[http:// www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br)>. Acesso em: 15 de janeiro de 2009.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Coordenadas geográficas**. 2008. Disponível em: <[http:// www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br)>. Acesso em: 15 de janeiro de 2009.

KELLY, W.R. Enfermedad del hígado en grandes y pequeños rumiantes. IN: 10º CONGRESSO LATINOAMERICANO DE BUIATRIA, 30ª JORNADAS URUGUAYAS DE BUIATRIA. Paysandú - Uruguai. **Anais do 10º Congresso Latinoamericano de Buiatria**, 2002, p.1-6.

LEMOS, R.A.A.; FERREIRA, L.C.L.; SALVADOR, S.C.; NAKAZATO, L. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em bovinos mantidos em pastagens de *Brachiaria decumbens* no Mato Grosso do Sul. In: ENCONTRO DE LABORATÓRIOS DE DIAGNÓSTICO VETERINÁRIO DO CONE SUL. 1, 1996b. **Anais do 1º Encontro de Laboratórios de Diagnóstico Veterinário do Cone Sul**. Campo Grande, 1996b, p. 41-43.

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, n. 1, p. 109-113. 1996a

LEMOS, R.A.A.; NAKAZATO, L.; HERRERO JR, G.O.; SILVEIRA, A.C.; PORFIRIO, 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, n. 3, p. 507-510. 1998.

LEMOS, R.A.A.; OSÓRIO, A.L.A.R.; RANGEL, J.M.R.; HERRERO JR, G.O. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em bezerros ingerindo *Brachiaria brizantha*. **Arq. Inst. Biol.** v. 63 (supl), n. 22. 1996c.

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, v.6, p.376-377. 1997.

MEAGHER, L.P.; WILKINS, A.L.; MILES, C.O.; COLLIN, R.G.; FAGLIARI, J.J. Hepatogenous photosensitization of ruminants by *Brachiaria decumbens* and *Panicum dichotomiflorum* in the absence of sporidesmin: lithogenic saponins may be responsible. **Vet. Hum. Toxicol.**, v. 38, p. 271-274, 1996.

MENDONÇA, F.S.; CAMARGO, L.M.; FREITAS, S.H.; DÓRIA, R.G.S.; EVÊNCIO, L.B.; 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. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 1034-1041. 2008.

MENNA M.E. Facial Eczema, 2- Warning Systems. In: **Ruakura Farmer'S Conference**. New Zealand, Proceedings, 1973. p. 50-54.

MILES, C.O.; MUNDAY, S.C.; HOLLAND, P.T.; SMITH, B.L.; EMBLING, P.P.; WILKINS, A.L. Identification of a sapogenin glucoronide in the bile of sheep affected by *Panicum dichotomiflorum* toxicosis. **N. Z. Vet. J.**, v. 39, p. 150-152. 1991.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Rebanho ovino brasileiro – efetivo por Unidade de Federação**. 2007. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 12 dez. 2007.

MORTIMER, P.H.; MENNA, M.E.; WHITE, E.P. Pithomycotoxicosis, “facial eczema” in cattle. In: WYLLIE T.D. & MOREHOUSE L.G. Mycotoxic fungi, mycotoxins, mycotoxicoses. **Marcel Dekker**, New York, p. 63-72. 1978.

NOBRE, D. & ANDRADE, S.O. Relação entre fotossensibilização em bovinos jovens e a gramínea *Brachiaria decumbens* Stapf. **O Biológico**, v. 42, n. 11-12, p. 249-258. 1976.

OLESZEK, W.A. Chromatographic determination of plant saponins. **Journal of Chromatography**, v. 967, p. 147-162. 2002.

OPASINA, B.A. Photosensitization Jaudice Syndrome in West African Dwarf sheep and goats grazed on *Brachiaria decumbens*. **Tropical Grasslands**, v. 19, n. 3. 1985.

PIRES, V.S.; TAKETA, A.T.C.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. Saponins and sapogenins from *Brachiaria decumbens* Stapf. **J. Bras. Chem. Soc.**, v.13, n.2, p.135-139. 2002.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinose eqüinos**. 9ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1263 p. 2002.

RESENDE, R.M.S.; VALLE, C.B.; JANK, L. **Melhoramento de forrageiras tropicais**. Campo Grande: EMBRAPA, 293p. 2008.

RIET CORREA, F.; MEDEIROS, R.M. Intoxicações por plantas no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle, e riscos para a Saúde Pública. **Pesq. Vet. Bras.** v. 21, n.1, p.38-42. 2000.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R.J; **Doenças de Ruminantes e Eqüídeos**. Santa Maria: Pallotti, v. 2, 694 p.. 2007.

ROZZA, D.B.; SEITZ, A.L.; BANDARRA, P.M.; SANTOS, E.O.; DRIEMEIER, D. Fotossensibilização por *Brachiaria decumbens* em búfalo. **Pesq. Vet. Bras.** v. 24 (supl.), p.55-56. 2004.

- SALAM ABDULLAH, A.; LAJIS, N.H.; BREMNER, J.B.; DAVIES, N.W.; MUSTAPHA, W.; RAJION, M.A. *Decumbens* intoxicated sheep. **Vet. Hum. Toxicol.**, v.34, n.2, p. 154-155. 1992.
- SALAM ABDULLAH A., NORDIN M.M., RAJION M.A. Signal grass (*Brachiaria decumbens*) toxicity in sheep: changes in motility and pH of reticulo-rumen. **Vet Hum. Toxicol.**, v.30, n.3, p.256-258. 1988.
- SANTOS, R.I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários, In: **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. Editora da UFRGS/Editora da UFSC, Porto Alegre. p.323-354. 2000.
- SEAWRIGHT, A.A.; LEE, J.S.; ALLEN, J.G.; HRDLICKA, J. Toxicity of Myoporium spp. and their furanosequiterpenoid essential oils. In: KEELER, R.F.; VAN KAMPEN, K.R.; JAMES, L.F. **Effects of Poisonous Plants on Livestock**. Academic Press, New York. p.241-250. 1978.
- SEIFFERT, N.F. **Gramíneas forrageiras do gênero *Brachiaria* spp.** Campo Grande, MT: EMBRAPA – CNPGC, Circular Técnica n.1, 83p. 1980.
- SILVEIRA, J.A.S.; ALBERNAZ, T.T.; SILVA, N.S.; LOPES, C.T.A; CERQUEIRA, V.D.; OLIVEIRA, C.M.C.; DUARTE, M.D.; BARBOSA, J.D. Fotossensibilização hepatógena em caprinos associada à ingestão de *Brachiaria brizantha* no Estado do Pará. In: Congresso Brasileiro de Buiatria, 8, 2009, Belo Horizonte. **Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria**. 2009. p. 336-341.
- SMITH, B.L. & MILES, C.O. A role for *Brachiaria decumbens* photosensitization of ruminants. **Vet. Hum. Toxicol.**, v.35, n.3, p.256-257. 1993.
- SMITH, B.P. **Large Animal Internal Medicine**. 3rd ed. Mosby, St Louis. 1735p. 2002.
- SOUZA, V.S.; BRUM, K.B.; GARUTTI, M. B.; FIORAVANTI, M.C.S.; HARAGUCHI, M. Influência da sazonalidade e pluviometria sobre a saponina esteroidal das gramíneas *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria decumbens* em Jataí (GO). In: **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. 29, 2006. Águas de Lindóia. 2006
- TOKARNIA, C.H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO, P.V. **Plantas Tóxicas do Brasil**. Helianthus, Rio de Janeiro, 310 p. 2000.
- WANG, H.; PROVAN, G. J.; HELLIWELL, K. Determination of rosmarinic acid and caffeic acid in aromatic herbs by HPLC. **Food and Chemistry**, 87, p. 307-311, 2004.
- WEISS, E. H. Physikalisch bedingte Hautentzündungen. In: JOEST, E. **Handbuch der pathologischen Anatomie der Haustiere**. Band IV. 3 Aufl. Paul Parey, Berlin. p. 437-480. 1962.