

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

Intoxicação experimental por *Brachiaria decumbens* em ovinos

Klaus Casaro Saturnino

CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL ã BRASIL
2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

Intoxicação experimental por *Brachiaria decumbens* em ovinos

Klaus Casaro Saturnino

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Antônio Amaral de Lemos

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de
Mato Grosso do Sul, como
requisito à obtenção do título
de Mestre em Ciência
Animal.

Área de Concentração:
Saúde Animal.

CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL - BRASIL
2009

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por ter me dado saúde, forças e proteção para realização de todas as etapas do Mestrado, sempre com muita força de vontade e paz.

A minha esposa Katyuscia Yanez do Nascimento Casaro Saturnino, que teve paciência, persistência e sempre me incentivou a prosseguir, mesmo nos momentos mais difíceis de incertezas e cansaço.

Aos meus pais Salvador e Yeda pela educação, por sempre terem acreditado em meu potencial e incentivo. Ao meu irmão Piero pelo companheirismo e solidariedade nas diversas viagens que fizemos.

À UNIGRAN ã Centro Universitário da Grande Dourados, pelo fornecimento de estrutura física e pessoal na realização dos experimentos.

Ao aluno Thiago Martins Mariani, do curso de formação de Medicina Veterinária da UNIGRAN, pessoa fundamental na realização das coletas, processamento de material e registro dos dados.

Aos funcionários da UNIGRAN Kleiton e Fábio, pelos cuidados prestados aos animais e manutenção de toda a estrutura física do experimento.

À Professora Bruna, do Curso de Biomedicina da UNIGRAN, pelos serviços prestados no processamento de amostras.

Aos professores Eurípedes Batista Guimarães, Carlos de La Fuente Del Pozo e Nilton Marques Carvalho, mestrandos Ana Paula Antunes Nogueira, Suzamar Gomes Cardial e Roosevelt Isaias Carvalho Sousa, funcionários do Laboratório de Anatomia Patológica Gerson Sabino de Oliveira, Sebastião Benedito de Freitas e Carmen Pisano, que sempre me incentivaram e ajudaram na elaboração deste trabalho.

À EQUALI pela parceria e confiança depositada em minha pessoa.

Ao CNPQ, através do Projeto Milenium, pelo auxílio financeiro e didático na realização da pesquisa, através do professor Franklin Riet-Correa.

Ao meu orientador, professor Ricardo Antonio Amaral de Lemos, pela paciência, dedicação e exemplo de pessoa e professor na realização da pesquisa.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Comparação do perfil médio da GGT (gamaglutamiltransferase), AST (aspartatoaminotransferase) e BD (bilirrubina direta) entre ovinos confinados que morreram ou sobreviveram após ingestão de <i>Brachiaria decumbens</i> de acordo com a época do ano no Mato Grosso do Sul.....	22
--	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Principais sinais clínicos, achados de necropsia e histopatologia encontrados em ovinos confinados que morreram intoxicados por <i>B. decumbens</i> no Mato Grosso do Sul.....	21
Quadro 2. Número de dias entre início do experimento e surgimento dos sinais clínicos	21
Quadro 3. Comparação média entre diferentes variáveis bioquímicas de acordo com a sobrevivência em cada período experimental em ovinos que consumiram <i>B. decumbens</i> em sistema de confinamento no Mato Grosso do Sul em 2008	21
Quadro 4. Correlação (Spearman) entre variáveis bioquímicas e morte em ovinos que consumiram <i>B. decumbens</i> em sistema de confinamento no Mato Grosso do Sul.....	23
Quadro 5. Intervalo total e média de dias, para o aparecimento de elevação da atividade bioquímica de acordo com os sinais clínicos em ovinos que morreram após consumo de <i>B. decumbens</i> em sistema de confinamento no Mato Grosso do Sul.....	23

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	01
2 OBJETIVO	01
3 FOTOSSENSIBILIZAÇÃO	02
3.1 Conceito	02
3.2 Epidemiologia	02
3.3 Etiopatogenia	04
3.4 Características clínicas	05
3.5 Achados de necropsia e histopatologia	07
3.6 Diagnóstico e diferencial	08
3.7 Tratamento	08
3.8 Controle e profilaxia	
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	10
5 ARTIGO	14
ABSTRACT	15
RESUMO	16
INTRODUÇÃO	17
MATERIAL E MÉTODOS	19
Animais e Manejo	19
Tratamentos e períodos experimentais	19
Análise de enzimas hepáticas	20
Exame clínico e necroscópico	20
Análise estatística	20
RESULTADOS	21
DISCUSSÃO	24
CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS	29
6 ANEXOS	33

1 INTRODUÇÃO

As espécies de braquiárias são difundidas forrageiras de regiões tropicais do mundo como na África, Ásia, Austrália, além da América do Sul. São originárias da África Tropical e adaptaram-se bem nos trópicos úmidos. A *Brachiaria decumbens* foi introduzida pela primeira vez no Brasil em 1952 pelo Instituto de Pesquisas Experimentais Agropecuárias do Norte (IPEAN), pertencente ao Ministério da Agricultura, e o seu plantio geralmente era feito por estolhos (B. d. IPEAN). Esta limitação de plantio foi contornada a partir de 1972 pela importação, da Austrália, de sementes de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk de alto poder germinativo, mas problemas de fotossensibilização foram relatados em pastagens formadas com essas sementes (Nobre & Andrade 1976).

No cerrado brasileiro há, aproximadamente, 51 milhões de hectares de *Brachiaria* spp., principalmente *Brachiaria brizantha* (30 milhões de hectares), *Brachiaria decumbens* (15 milhões de hectares), *Brachiaria humidicola* e outras (seis milhões de hectares) (Macedo 2005).

Foram relatados numerosos surtos de fotossensibilização em ruminantes em pastagens do cultivar Basilisk, após sua introdução, sugerindo que esta planta fosse eventualmente tóxica, a ponto de discutir-se sua viabilidade no país, diante dos prejuízos. A fácil difusão e a alta capacidade de produção de massa verde, em solos pobres, tornaram esta gramínea de grande importância econômica para a pecuária brasileira, suplantando a desvantagem de causar fotossensibilização em ruminantes no cerrado (Driemeier et al. 1999).

2 OBJETIVO

O presente trabalho teve por objetivo descrever o quadro clínico, patológico e a importância da avaliação bioquímica sérica na intoxicação experimental por *B. decumbens* em ovinos confinados em diferentes épocas do ano em Dourados, Mato Grosso do Sul.

3 FOTOSSENSIBILIZAÇÃO

3.1 Conceito

O termo fotossensibilização refere-se a acentuação da susceptibilidade das camadas superficiais da pele à luz solar, pela presença local de agentes fotodinâmicos, os quais apresentam uma configuração química que é capaz de absorver determinados comprimentos de onda de luz ultravioleta (Riet-Correa et al. 2007).

Pode ser classificada de acordo com a origem do agente fotodinâmico em primária, hepatógena e porfiria congênita. A forma primária é a doença onde o agente fotodinâmico pré-formado é ingerido, absorvido para o sangue e depositado nos tecidos. *Ammi majus* e *Froelichia humboldtiana* são exemplos de plantas que possuem substâncias fotodinâmicas pré-formadas que causam a doença. A forma hepatógena é causada por danos hepáticos que culminam com liberação da substância fotodinâmica filoeitrina, produto de degradação da clorofila pela microflora do trato gastrointestinal de herbívoros, na circulação periférica que resulta no problema (Rowe 1989, Carlton & McGavin 1998). Podem ser citadas como exemplos de plantas que causam esta forma a *Brachiaria* spp., *Panicum* spp., *Enterolobium* spp. (Riet-Correa et al. 2007) e *Nartheicum ossifragum* (Laksesvela & Dishington 1983, Miles et al. 1993). A forma porfiria congênita é um distúrbio metabólico, geralmente de origem hereditária, que ocorre em várias espécies e resulta em síntese anormal e acúmulo de pigmentos endógenos ou porfirias, que são por si mesmas, fotodinâmicas (Carlton & McGavin 1998, Riet-Corre et al. 2007).

A intoxicação por *B. decumbens* ocorre em bovinos (Nobre & Andrade 1976, Opasina 1985, Abdullah et al. 1989, Rowe 1989, Lemos et al. 1996a, Lemos et al. 1996c, Lemos et al. 1997, Driemeier et al. 1998, Driemeier et al. 1999), ovinos (Graydon et al. 1991, Abdullah et al. 1992, Lajis et al. 1993, Lemos et al. 1996b, Abdullah & Rajion 1997, Lemos et al. 2008, Cruz et al. 2000, Driemeier et al. 2002, Brum et al. 2007), caprinos (Opasina 1985, Lemos et al. 1998), bubalinos (Rozza et al. 2004, Riet-Correa et al. 2007) e eqüinos (Barbosa et al. 2006), e se caracteriza por quadro de fotossensibilização hepatógena, apresentando como princípio tóxico saponinas esteroidais (Abdullah & Rajion 1997, Cruz et al. 2000).

3.2 Epidemiologia

Riet-Correa et al. (2007) relatam que a intoxicação por *B. decumbens* pode ocorrer em qualquer época do ano mas outros estudos (Mendonça et al. 2008, Santos Junior et al. 2008) evidenciaram que o conteúdo de saponinas esteroidais em *Brachiaria* spp. e, conseqüentemente sua toxicidade, é maior na fase de queda de sementes do que em outras fases (Brum et al. 2004). Souza et al. (2006) relatam sobre o isolamento de protodioscina de *B. decumbens* e *B. brizantha* e seu teor conforme a precipitação pluviométrica em época de chuva e seca nas pastagens da região Centro-Oeste brasileira e concluíram que os isômeros de protodioscina nas folhas das forrageiras indicaram maior concentração no período das chuvas, quando as folhas estão mais verdes, onde encontram-se o maior número de casos de fotossensibilização, em relação ao período da seca.

Albernaz et al. (2008) relatam surto em ovinos na época da seca, mas também relatam no mesmo trabalho maior incidência de animais acometidos na época de brotação, semelhante ao de Santos Junior et al. (2008) dizendo que, embora a planta seja tóxica para ovinos em qualquer época de seu desenvolvimento, possui maior toxicidade aos 15 dias de crescimento, coincidindo com o período de brotação intensa.

Os animais mais jovens ou recém-desmamados apresentam maior susceptibilidade do que os adultos (Albernaz et al. 2008, Santos et al. 2008), os ovinos são mais susceptíveis que os bovinos à intoxicação e a espécie ovina de qualquer idade pode estar sujeita ao problema (Lemos et al. 1996b, Santos et al. 2008). Há relatos de que animais que têm contato com a *B. decumbens* pela primeira vez são mais susceptíveis, não havendo estudos que demonstrem a existência de animais mais resistentes por mecanismos de adaptação ou se ocorre algum tipo de seleção natural dos mais resistentes (Riet-Correa et al. 2007).

Não existem estudos sistematizados sobre a intoxicação em ovinos no Brasil. Os relatos de intoxicação espontânea referem-se a situações pontuais de surtos.

Riet-Correa et al. (2007) relatam que a morbidade é bastante variável e a mortalidade, normalmente, é baixa, mas podem ocorrer perdas expressivas. Em experimento realizado por Santos Junior et al. (2008) ocorreram morbidade de 80% e mortalidade de 42,86%, enquanto Albernaz et al. (2008) relatam sobre morbidade de 62,5% e mortalidade de 52%.

Lemos et al. (1996c) descrevem dois surtos onde o primeiro, em um rebanho de 120 ovinos, 50 adoeceram e dentre estes 30 morreram, enquanto no outro surto, em um rebanho de 40 animais apenas um adoeceu.

Brum et al. (2007) descrevem surto de intoxicação em rebanho de 28 ovinos em que a morbidade foi de 28,57% e a mortalidade de 75%, onde os animais mais afetados foram os jovens, enfatizando a categoria mais afetada.

3.3 Etiopatogenia

A fotossensibilização por espécies de *Brachiaria* em bovinos e ovinos foram inicialmente atribuídos a níveis considerados tóxicos de esporos de *Pithomyces chartarum*, produtores da micotoxina esporidesmina, na pastagem (Camargo et al. 1976). Esta postulação tem sido questionada desde a década de 70 com a chegada da *B. decumbens* Australiana (B.d.A) onde Nobre e Andrade (1976) relatam a ocorrência de fotossensibilização apenas nesta variedade da forrageira e, em pastagens contendo o fungo, não foi constatado o problema. Andrade et al. (1978) levantam a hipótese de participação da gramínea no desenvolvimento da fotossensibilização e Opasina (1985) não isolou o fungo de pastagens em que haviam animais com fotossensibilização. Graydon et al. (1991) relatam sobre colangiopatia associada à presença de cristais birrefringentes no fígado de animais intoxicados por *B. decumbens* sem isolamento do fungo nestas pastagens e outros autores relatam sobre achados de fatores anti-nutricionais chamados saponinas esteroidais no líquido ruminal de animais intoxicados com *B. decumbens* (Abdullah & Rajion 1997).

Estudos mostram que a fotossensibilização por *B. decumbens*, é semelhante à causada por *Panicum* spp. (Bridges et al. 1987, Rowe 1989), *Tribulus terrestris* (Glastombury et al. 1984, Rowe 1989), *Agave lecheguilla* (Camp et al. 1988) e *Nartheccium ossifragum* (Miles et al. 1993) graças à presença de saponinas esteroidais que levam à deposição de materiais cristalóides no sistema biliar e desencadeiam a fotossensibilização (Cruz et al. 2000).

Saponinas esteroidais são glicosídeos que quando sofrem hidrólise, produzem açúcares e sapogeninas. Apresentam núcleo tipo furostanólico ou espirostanólico, que contém uma ou várias cadeias de açúcares e esses açúcares dão origem à parte hidrofílica das saponinas. A parte lipofílica das saponinas é denominada sapogenina ou aglicona e essa estrutura permite que quando em solução aquosa seja produzida espuma persistente e abundante (Santos et al. 2008). Uma molécula de açúcar está ligada ao

grupo hidroxílico no átomo C2 de ambas as saponinas espirostanólicas e furostanólicas. Em adição, a saponina furostanólica possui uma unidade de açúcar ligada ao átomo C26 do núcleo espirostanólico, diferenciando-as e, ao contrário da saponina espirostanólica, outra diferença é que a saponina furostanólica não possui atividade hemolítica (Patamalai et al. 1990)

As saponinas de *Brachiaria decumbens* são derivadas das sapogeninas diosgenina (25R), yamogenina (25S) (Meagher et al. 1996, Cruz et al. 2000) e protodioscina (Haraguchi et al. 2003), que após passarem pelo metabolismo no trato gastrointestinal dos animais, vão resultar nas sapogeninas epismilagenina e episarsasapogenina, respectivamente, que são as responsáveis pela formação dos cristais biliares. O mecanismo provável de formação dos cristais biliares envolve a hidrólise dos açúcares da saponina pelo metabolismo ruminal, seguida pela redução da dupla ligação (C5 ã C6); depois epimerização do radical 3-•-OH para 3-Û-OH e, finalmente, ocorre à conjugação com o ácido glicurônico. Os glicuronídeos de epismilagenina e episarsasapogenina se ligam com íons cálcio e formam sais insolúveis que se depositam nos ductos biliares na forma de cristais (Miles et al. 1991, Miles et al. 1994, Santos et al. 2008). 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 nos hepatócitos, células de Kupffer e células dos túbulos renais (Santos et al. 2008). O material cristalóide pode causar fotossensibilização e icterícia pelo bloqueio físico ao fluxo da bile, ou os metabólitos das saponinas podem causar colestase (fluxo canalicular de bile reduzido) específica (Carlton & McGavin 1998, Santos et al. 2008).

Meagher et al. (1996) e Lajis et al. (1993) relatam sobre a presença de diosgenina e yamogenina na *B. decumbens* em surtos de fotossensibilização e detectaram epismilagenina e episarsasapogenina no rúmen de ovinos que ingeriram a forrageira, indicando que o metabolismo das saponinas desta planta pela microflora ruminal está presente na formação dos cristais biliares.

Brum et al. (2007) relataram um surto de fotossensibilização hepatógena em ovinos mantidos em pastagem de *B. decumbens*, onde amostras da pastagem apresentaram 2,36% de protodioscina e nenhum esporo de *Pithomyces chartarum* foi encontrado. O surto ocorreu em novembro, época em que a pastagem encontrava-se verde. Em um pasto de *B. decumbens* vizinho com quantidades maiores de folhas secas,

onde havia bovinos que não desenvolveram fotossensibilização, o nível encontrado de protodioscina foi de 1,63%.

3.4 Características clínicas

A literatura descreve que os sinais clínicos de fotossensibilização por *B. decumbens* podem surgir após períodos variáveis de ingestão como 05 dias (Brum et al. 2007), 10 dias (Opasina 1985, Abdullah & Rajion 1997), 14 dias (Albernaz et al. 2008) e 21 dias (Graydon et al. 1991). A doença apresenta-se como uma dermatite caracterizada por edema de face e orelhas evoluindo para formação de crostas ao redor dos olhos e orelhas (Abdullah et al. 1989, Graydon et al. 1991, Lemos et al. 1996b, Brum et al. 2007, Albernaz et al. 2008, Mendonça et al. 2008) associadas à icterícia (Abdullah & Rajion 1997). Após um período de exposição ao sol, os animais também apresentam inquietação, balançam a cabeça e as orelhas, esfregam ou coçam as áreas afetadas (prurido) em objetos e procuram a sombra (fotofobia) (Santos Junior et al. 2008).

As lesões de pele iniciam com eritema, seguido de edema, fobia e dor. Ocorre espessamento das partes afetadas da pele, com presença de exsudato e formação de crostas, resultando em necrose e gangrena seca, deixando a pele lesada com aspecto de casca de árvore que, finalmente, se desprende. A icterícia observada pode variar de ausente (Santos Junior et al. 2008), moderada (Brum et al. 2007) a generalizada (Albernaz et al. 2008). Os animais afetados podem apresentar desidratação (Opasina 1985), anorexia, depressão, focinho seco, secreção ocular e nasal (Mendonça et al. 2008, Brum et al. 2007), e permanecerem separados do rebanho ou não (Rowe 1989, Brum et al. 2007).

São relatados aumentos da atividade sérica das enzimas GGT (gamaglutamiltransferase) (Brum et al. 2007, Albernaz et al. 2008, Mendonça et al. 2008, Santos Junior et al. 2008), AST (aspartato aminotransferase) (Santos Junior et al. 2008) e elevações dos níveis séricos de bilirrubina (Brum et al. 2007, Albernaz et al. 2008, Mendonça et al. 2008, Santos Junior et al. 2008).

A AST é encontrada principalmente no fígado, nos eritrócitos e nos músculos esquelético e cardíaco, portanto ela não é uma enzima hepato-específica. É considerada uma enzima de extravasamento e o aumento de sua atividade sérica pode ter como causa a necrose e lesão sub letal de hepatócitos e de células musculares (Meyer et al. 1995, Kerr 2003, Thrall et al. 2006). Normalmente é utilizada para avaliar lesão muscular em

conjunto com creatina fosfocinase (CK) e lactato desidrogenase. Em ruminantes e eqüinos, devido a suas altas concentrações no fígado, é usada também para investigar doenças hepáticas (Kerr 2003), porém não é específica para o diagnóstico das hepatopatias (Santos et al. 2008).

A GGT é uma enzima de indução por estar presente nas membranas celulares e a elevação de sua atividade envolve o aumento da sua produção por células que normalmente a produzem em menor quantidade devido a um estímulo que resulta em sua maior liberação pelas mesmas. É sintetizada por quase todos os tecidos do corpo, em especial no pâncreas e rim, mas sua produção acaba sendo eliminada junto ao suco pancreático e urina, respectivamente, não havendo importância para diagnóstico sanguíneo destes órgãos. Sendo assim, a maior parte da GGT sérica é oriunda do fígado (Thrall et al. 2006).

Em ruminantes, assim como em outras espécies, o aumento da atividade de GGT ocorre após colestase, por ser uma enzima originária das membranas dos canalículos e ductos biliares (Santos et al. 2008). Esta elevação de sua atividade sérica pode ocorrer por maior produção da enzima e por solubilização da GGT aderida à membrana celular. Nesta última condição, ocorre indução pela ação detergente dos ácidos biliares que não foram excretados normalmente pelos ductos biliares no intestino (Thrall et al. 2006).

Bilirrubina é um subproduto da degradação metabólica, pelos macrófagos, da hemoglobina (molécula heme) dos eritrócitos envelhecidos (Meyer et al. 1995, Kerr 2003) e, em menor grau, do metabolismo de outros compostos que contêm porfirina. Em sua forma inicial, não é solúvel em água; por isso, quando está no plasma, encontra-se ligada à albumina (Kerr 2003). Pode ser classificada em bilirrubina não conjugada ou indireta e bilirrubina conjugada ou direta (Thrall et al. 2006, Santos et al. 2008).

A bilirrubina indireta é proveniente da destruição de eritrócitos com liberação e metabolização da hemoglobina até se transformar em bilirrubina e a elevação de seus níveis séricos está normalmente ligada ao maior grau de hemólise. A elevação dos níveis séricos de bilirrubina direta está relacionada ao distúrbio do fluxo biliar podendo ser intra ou extra-hepático e geralmente se deve à obstrução do sistema biliar. Tal obstrução provoca colestase e acúmulo de bile no sistema biliar (espessamento da bile). Pode estar associada à inflamação ou neoplasia do sistema biliar e resulta em regurgitação de bilirrubina conjugada ao sangue. Doenças hepáticas que comprometem mais o parênquima que o sistema biliar também pode causar colestase. Nessas doenças,

a tumefação de hepatócitos provoca obstrução de pequenos canalículos biliares e impedem o fluxo normal (Thrall et al. 2006).

Não foram encontrados trabalhos que utilizassem a ALT (alanina aminotransferase) na avaliação bioquímica. Esta enzima ocorre em tecidos com metabolismo de aminoácidos ativo, como o fígado, rins, músculo esquelético e miocárdio e, em geral, a ALT pode ser considerada uma enzima indicadora de lesão hepática em primatas, cães, gatos, coelhos e ratos. No entanto, em suínos, eqüinos, bovinos, ovinos e caprinos, tem pouco valor diagnóstico, uma vez que é encontrada em concentrações muito baixas no fígado destas espécies (Thrall et al. 2006, Santos et al. 2008). A FA (fosfatase alcalina) é citada na literatura (Riet-Correa et al. 2006), mas em eqüinos e ruminantes, a limitada faixa de normalidade da atividade sérica de GGT torna mais valiosa a determinação de tal enzima (é mais sensível e específica) do que a FA em diagnóstico de colestase. Outros testes como SDH (sorbitol desidrogenase) e GLDH (glutamato desidrogenase) podem ser usados para detecção de lesão de hepatócitos em ruminantes, mas apesar de serem mais hepato-específicas que a AST, não há testes comerciais dessas enzimas facilmente disponíveis no mercado como para AST (Thrall et al. 2006).

3.5 Achados de necropsia e histopatologia

Nos achados de necropsia além de lesões de pele e opacidade de córnea (Brum e al. 2007, Opasina 1985), o fígado pode estar amarelado e aumentado de volume (Opasina 1985, Lemos et al.1996c), sendo que podem ser observadas em casos mais crônicos, extensas áreas de fibrose. A vesícula biliar pode se apresentar distendida e com bile viscosa e espessa (Abdullah et al. 1989, Brum et al. 2007, Opasina 1985), os rins podem estar escurecidos e a urina também pode estar com coloração escura e acastanhada (Driemeier et al. 2002). Diversos graus de icterícia podem ser observados no tecido subcutâneo, tecido adiposo mesentérico e do omento, além de membranas mucosas e serosas (Mendonça et al. 2008, Graydon et al. 1991).

Microscopicamente as principais alterações são observadas no fígado e se caracterizam pela tumefação e necrose difusa de hepatócitos (Abdullah et al. 1989, Santos Junior et al. 2008), presença de cristais birrefringentes, opticamente ativos na luz de ductos biliares, associados à colangite e pericolangite, nos espaços periportais, e proliferação das vias biliares (Cruz et al. 2000, Driemeier et al. 2002, Brum et al. 2007, Mendonça et al. 2008). Em casos mais crônicos pode haver proliferação de tecido

fibroso principalmente na região periportal (Albernaz et al. 2008). Também são observadas células gigantes multinucleadas com citoplasma espumoso que têm tendência a se agruparem, distribuídas aleatoriamente no parênquima hepático, porém mais frequentes nas proximidades das veias centrolobulares, além de poderem estar presentes nos linfonodos hepáticos e mesentéricos (Lemos et al. 1996b, Driemeier et al. 2002, Brum et al. 2007).

3.6 Diagnóstico e diferencial

O diagnóstico é realizado pela observação dos sinais clínicos e da patologia, e, principalmente, pelos dados epidemiológicos (Riet-Corre et al. 2007). A restrição das lesões típicas à pele despigmentada ou desprovida de pêlo ou lã junto com reações à luz solar (Carlton & McGavin 1998), assim como a busca por sombreamento são suficientes para um diagnóstico presuntivo de fotossensibilização. É importante a realização da correlação com o agente etiológico pela presença da gramínea (*Brachiaria* spp), sem a presença de outras plantas tóxicas fotossensibilizantes e deve ser feito o diagnóstico diferencial com doenças que cursam com icterícia em ovinos, como a intoxicação por cobre (Riet-Correa et al. 2007).

3.7 Tratamento

O tratamento da fotossensibilização é sintomático e inclui a colocação do animal na sombra, o controle da infecção secundária, a remoção dos animais da forrageira, a manutenção do estado de hidratação, o acesso a eletrólitos e a administração de antiinflamatórios não-esteróides e antibióticos nos casos graves (Pugh 2004). Além disso, os animais afetados podem ser tratados com protetores hepáticos (soro glicosado, compostos a base de metionina, etc.) (Riet-Correa et al. 2007).

3.8 Controle e profilaxia

A fotossensibilização pode ser evitada pelo manejo correto da pastagem e pela disponibilidade de áreas sombreadas (Pugh 2004).

No caso de *B. decumbens* a medida mais eficaz é a não utilização dessa pastagem para ovinos e bovinos jovens (Riet-Correa et al. 2007).

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdullah A.S., Noordin M.M. & Rajion M.A. 1989. Neurological disorders in sheep during signal grass (*Brachiaria decumbens*) toxicity. Vet. Hum. Toxicol. 31(2):128-29.
- Abdullah A.S., Lajis N.H., Davies J.B.B., Rajion M.A. & Mustapha W. 1992. Hepatotoxic constituents in the rumen of *Brachiaria decumbens* intoxicated sheep. Vet. Hum. Toxicol. 34(2):154-155.
- Abdullah A.S. & Rajion M.A. 1997. Dietary factors affecting entero-hepatic function of ruminants in the tropics. Animal Feed Science and Technology 69:83-86.
- Albernaz T.T., Silveira J.A.S., Reis A.S.B., Oliveira C.H.S., Oliveira C.M.C., Duarte M.D., Cerqueira V.D., Riet-Correa G. & Barbosa J.D. 2008. Fotossensibilização em ovinos associada à ingestão de *Brachiaria brizantha* no Pará. Anais... ENDIVET. Campo Grande p.73-74.
- Andrade S. O., Lopes H. O. S., Barros M. A., Leite G. G., Dias S. M. C., Saueressig M., Nobre D. & Temperini J. A. 1978. Aspectos da fotossensibilização em bovinos em pastagens de *Brachiaria decumbens* Stapf infestadas por *Pithomyces chartarum*. Arqs Inst. Biológico, São Paulo, 45(2):117-136.
- Barbosa J.D., Oliveira C.M.C., Tokarnia C.H. & Peixoto P.V. 2006. Fotossensibilização hepatógena em eqüinos pela ingestão de *Brachiaria humidicola* (Graminae) no Estado do Pará. Pesq. Vet. Bras. 26(3):147-153.
- Bridges C.H., Camp B.J., Livingston C.W. & Bailey E.M. 1987. Kleingrass (*Panicum coloratum* L.) poisoning in sheep. Vet. Pathol. 24:525-531.
- Brum K.B., Haraguchi M., Garutti M.B., Nóbrega F.N. & Rosa M.C. 2004. Análise semiquantitativa da saponina protodioscina do ciclo vegetativo de *Brachiaria decumbens* e *B. brizantha*. Pesq. Vet. Bras. 24:13-14.
- Brum K.B., Haraguchi M., Lemos R.A.A., Riet-Correa F. & Fioravanti M.C.S. 2007. Crystal-associated cholangiopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens* containing the saponin protodioscin. Pesq. Vet. Bras. 27(1):39-42.
- Camargo W.V.A., Nazario W. & Fernández N.S. 1976. Fotossensibilização em bovinos de corte. Biológico, São Paulo, 42(5):249-261.
- Camp B.J., Bridges C.H., Hill D.W., Patamalai B. & Wilson S. 1988. Isolation of a steroidal sapogenin from the bile of a sheep fed *Agave lacheguilla*. Vet. Hum. Toxicol. 30(6):533-535.

- Carlton W.W. & McGavin M.D. 1998. Patologia Veterinária Especial de Thomson. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 672p.
- Cruz C., Driemeier D., Pires V.S., Colodel E.M., Taketa A.T.C. & Schenkel E.P. 2000. Isolation of steroidal sapogenins implicated in experimentally induced cholangiopathy of sheep grazin *Brachiaria decumbens* in Brazil. Vet. Hum. Toxicol. 42(3):142-45.
- Driemeier D., Barros S. S., Peixoto P. V., Tokarnia C. H., Döbereiner J. & Brito M. F. 1998. Estudos histológico, histoquímico e ultra-estrutural de fígados e linfonodos de bovinos com presença de macrófagos espumosos (ófoam cellsô). Pesq. Vet. Bras. 18(1):29-34.
- Driemeier D., Döbereiner J., Peixoto P.V. & Brito M.F. 1999. Relação entre macrófagos espumosos (ófoam cellsô) no fígado de bovinos e ingestão de *Brachiaria* spp no Brasil. Pesq. Vet. Bras. 19(2):79-83.
- Driemeier D., Colodel E.M., Seitz A.L., Barros S.S. & Cruz C.E.F. 2002. Study of experimentally induced lesions in sheep by grazing *Brachiaria decumbens*. Toxicon 40:1027-1031.
- Glastonbury J.R.W., Doughty F.R., Whitaker S.J. & Sergeant E. 1984. A syndrome of hepatogenous photosensitization, resembling geeldikkop, in sheep grazin *Tribulus terrestris*. Aust. Vet. J. 61(10):314.
- Graydon R.J., Hamid H., Zahari P. & Gardiner C. 1991. Photosensitization and crystal-associated colangiohepatopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens*. Aust. Vet. J. 68:234-236.
- Haraguchi M., Cunha H.A., Mimaki Y., Brum K.B., Lemos R.A.A., Yokosuka A. & Sashida Y. 2003. Furostanol glicosídicos nas folhas de *Brachiaria decumbens*. 26ª Reun. Anu. Soc. Bras. Química, Poços de Caldas, MG. PN-066.
- Kerr M.G. 2003. Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária: Bioquímica Clínica e Hematologia. 2ª ed. São Paulo: Roca, 436p.
- Lajis N.H., Abdullah S.A., Salim J.S., Bremmer J.B. & Khan M.N. 1993. Epi-sarsapogenin and epi-smilagenin isolated from the rumen content of sheep intoxicated by *Brachiaria decumbens*. Steroids 58:387-389.
- Lakesvela B. & Dishington I.W. 1983. Bog asphodel (*Nartheceium ossifragum*) as a cause of photosensitization in lambs in Norway. Vet. Rec. 112:375-378.
- Lemos R.A.A., Osório A.L.A.R., Rangel J.M.R. & Herrero Junior G.O. 1996a. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em bezerros ingerindo *Brachiaria brizantha*. Arqs Inst. Biol. São Paulo, 63(supl):22.

- Lemos R.A.A., Ferreira L.C.L., Silva S.M., Nakazato L. & Salvador S.C. 1996b. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em ovinos em pastagem com *Brachiaria decumbens*. *Ciência Rural*, Santa Maria, 26(1):109-13.
- Lemos R.A.A., Oliveira V.A., Herrero Junior G.O., Ferreira M.B. & Almeida A.J. 1996c. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em bovinos lactentes associada à ingestão de *Brachiaria decumbens*. Abstracts: XV PANVET. Abstracts... Campo Grande, 1. p.170.
- Lemos R.A.A., Salvador S.C. & Nakazato L. 1997. Photosensitization and crystal-associated cholangiohepatopathy in cattle grazing *Brachiaria decumbens* in Brazil. *Vet. Hum. Toxicol.* 39(6):376-377.
- Lemos R.A.A., Nakazato L., Herrero Junior G.O., Silveira A.C. & Porfírio L.C. 1998. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em caprinos mantidos sob pastagens de *Brachiaria decumbens* no Mato Grosso do Sul. *Ciência Rural*, Santa Maria, 28(3):507-510.
- Lemos R.A.A. & Leal C.R.B. 2008. Doenças de impacto econômico em bovinos de corte: perguntas e respostas. Campo Grande-MS: Ed. UFMS p. 232-36.
- Macedo M.C.M. 2005. Pastagens no Ecossistema Cerrados: evolução das pesquisas para o desenvolvimento sustentável. Anais... 42ª Reun. Anu. Soc. Bras. Zootecnia, Goiânia, p.56-84.
- Meagher L.P., Miles C.O. & Fagliari J.J. 1996. Hepatogenous photosensitization of ruminants by *Brachiaria decumbens* and *Panicum dichotomiflorum* in the absence of sporidesmin: lithogenic saponins may be responsible. *Vet. Hum. Toxicol.* 38(4):271-4.
- Mendonça F.S., Camargo L.M., Freitas S.H., Dória R.G.S., Baratella-Evêncio L. & Neto J.E. 2008. 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* 9(4):1034-1041.
- Meyer D.J., Coles E.H. & Rich L.J. 1995. Medicina de Laboratório Veterinária: Interpretação e Diagnóstico. 1ª ed. São Paulo: Roca, 308p.
- Miles C.O., Wilkins A.L., Munday S.C., Holland P.T., Smith B.L. & Embling P.P. 1991. Identification of a saponin glucuronide in the bile of sheep affected by *Panicum dichotomiflorum* toxicosis. *New Zealand Veterinary Journal* 39(4):150-52.
- Miles C.O., Wilkins A.L., Munday S.C., Flayoen A., Holland P.T. & Smith B.L. 1993. Identification of insoluble salts of the •-D-glucuronides of episarsasapogenin and episamilagenin in the bile of lambs with alved and examination of *Nartheicum*

- ossifragum*, *Tribulus terrestris* and *Panicum miliaceum* for sapogenins. J. Agric. Food Chem. 41(6):914-917.
- Miles C.O., Wilkins A.L., Erasmus G.L. & Kellerman T.S. 1994. Photosensitivity in South Africa. VIII Ovine metabolism of *Tribulus terrestris* saponins during experimentally induced geeldikkop. Onderstepoort Journal of Veterinary 61(4):351-59.
- Nobre D. & Andrade S.O. 1976. Relação entre fotossensibilização em bovinos jovens e a gramínea *Brachiaria decumbens* Stapf. Biológico, São Paulo, 42:249-258.
- Opasina B.A. 1985. Photosensitization jaundice syndrome in west African dwarf sheep and goats grazed on *Brachiaria decumbens*. Tropical Grasslands 19(3):120-123.
- Patamalai B., Hejtmancik E., Bridges C.H., Hill D.W. & Camp B.J. 1990. The isolation and identification of steroidal sapogenins in Kleingrass. Vet. Hum. Toxicol. 32(4):314-318.
- Pugh D.G. 2004. Clínica de Ovinos e Caprinos. 1ª ed. São Paulo: Roca 513p.
- Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. 2007. Doença de Ruminantes e eqüídeos. Santa Maria: Pallotti 3ª ed. 2:694.
- Rozza D.B., Seitz A.L., Santos E.O. & Driemeier D. 2004. Fotossensibilização por *Brachiaria decumbens* em búfalo. Pesq. Vet. Bras.24(supl):55-56.
- Rowe L. D. 1989. Photosensitization problems in livestock. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice 5(2):301-319.
- Santos J.C.A., Riet-Correa F., Simões S.V.D. & Barros C.S.L. 2008. Patogênese, sinais clínicos e patologia das doenças causadas por plantas hepatotóxicas em ruminantes e eqüínos no Brasil. Pesq. Vet. Bras. 28(1):1-14.
- Santos Junior H.L., Moscarini A.R.C., Paludo G., Riet-Correa F., Borges J.R.J & Castro M.B. 2008. Toxicidade de diferentes estágios de crescimento da *Brachiaria decumbens* a ovinos. Anais... ENDIVET. Campo Grande p. 135-136.
- Souza V.S., Brum K.B., Garutti M.B., Fioravanti M.C.S. & Haraguchi M. 2006. Influência da sazonalidade das gramíneas *Brachiaria brizantha* e *B. decumbens* em Jataí (GO). 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Águas de Lindóia-SP.
- Thrall M.A., Baker D.C., Campbell T.W., DeNicola D., Fettman M.J., Lassen E.D., Rebar A. & Weiser G. 2006. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. São Paulo: Roca 582p.

5 ARTIGO

**Intoxicação experimental por *Brachiaria decumbens* em
ovinos**

**Experimental poisoning by *Brachiaria decumbens* in
sheep**

**Saturnino K.C., Mariani T.M., Barbosa-Ferreira M., Brum K.B.,
Fernandes C.E., Lemos, R.A.A.**

Intoxicação experimental por *Brachiaria decumbens* em ovinos¹

Klaus C. Saturnino², Thiago M. Mariani³, Marcos Barbosa-Ferreira⁴, Karine B. Brum⁴, Carlos Eurico Fernandes⁴, Ricardo A. A. Lemos⁵

ABSTRACT ñ Saturnino K.C., Mariani T.M., Barbosa-Ferreira M., Brum K.B., Fernandes C.E., Lemos, R.A.A. 2009. [Experimental poisoning by *Brachiaria decumbens* in sheep.] Intoxicação experimental por *Brachiaria decumbens* em ovinos. Departamento de Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Av. Senador Filinto Müller 2443, Cx. Postal 549, Campo Grande-MS, CEP 79070-900, Brazil. E-mail: Klaus.sat@terra.com.br

ABSTRACT - An experimental study of intoxication by *Brachiaria decumbens* was performed in confined sheep receiving only this foraging as source of food. The animals were evaluated in 3 periods of the year, lasting 60 days each analyzing their clinical state and blood samples to measure the enzymatic activity of GGT (gamma glutamyltransferase), AST (aspartate aminotransferase) and the seric levels of BD (direct bilirubin) with the purpose of evaluating the importance and usefulness in the diagnosis of hepatogenous photosensitization caused by this plant, besides the report of clinics signs, necropsy and histopathologic finds. Of 24 confined animals, five died in the first period, four in the second and two in the third being main clinic signs anorexia, jaundice, photophobia and two cases of light dermatitis, besides dehydration and apathy. In the necropsy finds were verified generalized jaundice, stretched and crammed gall bladder, evident lobular pattern, corneal opacity. The microscope changes were more significant in the liver with bilestasis, swelling and vacuolation of hepatocytes, foamy macrophages, bile duct proliferation, infiltration of mononuclear inflammatory cells, signs which varied in their severity according to the time after the ingestion of the plant. The finds were characteristic to hepatogenous photosensitization by *Brachiaria decumbens* in the studied period and in the consume quantities, even when the animals did not present dermatopathy, mainly by the presence of photophobia. The results of the seric analyses demonstrated indication of increase in its activities during the intoxication process with strong relation between GGT, BD and sheep deaths, with arising of elevation of the GGT activity, in average 11 days before the verification of clinic signs, validating its preventive diagnostic importance. The BD had elevation in periods really close to clinic signs and the AST had inconsistent results. Thirteen animals not present clinic signs despite being verified significant elevation in levels of

¹Aceito para publicação

²Médico-Veterinário, Mestrando em Ciência Animal. Rua Balbina de Matos, 2.121. Dourados, MS. E-mail: klaus.sat@unigran.br

³Graduando em Medicina Veterinária, Centro Universitário da Grande Dourados (UNIGRAN)

⁴Departamento de Patologia, CCBS, UFMS, 79070-900, Campo Grande, MS

⁵Doutor em Medicina Veterinária, Professor Adjunto, Departamento de Medicina Veterinária. FAMEZ/UFMS

seric enzymes in question, suggesting the existence of tolerant/resistant individuals in the established interval.

The experimental model was adequate in the characterization of intoxication of sheep by *B. decumbens*, offering data to perform new researches.

INDEX TERMS: *Brachiaria decumbens*, photosensitization, sheep, pathology.

RESUMO ã Foi realizado estudo experimental de intoxicação por *Brachiaria decumbens* em ovinos confinados recebendo apenas esta forrageira como fonte alimentar. Os animais foram avaliados em três períodos do ano, com duração de 60 dias cada, analisando seus estados clínicos e amostras de sangue para mensuração da atividade das enzimas séricas GGT (gama glutamiltransferase), AST (aspartato aminotransferase) e dos níveis séricos de BD (bilirrubina direta) com o objetivo de avaliar sua importância e utilidade no diagnóstico de fotossensibilização hepatógena causada por esta planta, além de relatos dos sinais clínicos, achados de necropsia e histopatológicos. De vinte e quatro animais confinados, cinco morreram no primeiro período, quatro no segundo e dois no terceiro, tendo como principais sinais clínicos anorexia, icterícia, fotofobia e dois casos de dermatite leve, além de desidratação e apatia. Nos achados de necropsia foram constatados icterícia generalizada, vesícula biliar repleta e distendida, padrão lobular evidente e em dois casos, opacidade de córnea. As alterações microscópicas foram mais significativas no fígado com bilestase, tumefação e vacuolização de hepatócitos, sinusóides com macrófagos, proliferação de ductos e canálculos biliares com infiltração linfocítica, sinais estes que variaram na sua severidade conforme o tempo decorrido da ingestão da planta. Os achados foram característicos de fotossensibilização hepatógena por *B. decumbens* no período estudado e nas quantidades consumidas, mesmo quando os animais não apresentaram dermatopatia, principalmente pela presença de fotofobia. Os resultados da avaliação sérica demonstraram indícios de aumento de suas atividades durante o processo de intoxicação com forte correlação entre GGT, BD e morte dos ovinos, com surgimento de elevação da atividade sérica de GGT, em média, 11 dias antes da constatação dos sinais clínicos, validando sua importância diagnóstica preventiva. A BD teve elevação em períodos bem próximos dos sinais clínicos e a AST teve resultados inconsistentes. Treze animais não apresentaram sinais clínicos, apesar de serem constatadas significativas elevações nos níveis séricos das enzimas em questão, sugerindo a existência de indivíduos tolerantes/resistentes dentro do intervalo estabelecido. O modelo experimental foi adequado na caracterização da intoxicação de ovinos pela *B. decumbens*, oferecendo dados para a realização de novas pesquisas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Brachiaria decumbens*, fotossensibilização, ovino, patologia, confinamento.

INTRODUÇÃO

A *Brachiaria decumbens* é uma forrageira amplamente utilizada como fonte alimentar para ruminantes no Brasil por sua boa adaptação e produção de massa em condições climáticas tropicais, mas tem sido associada à ocorrência de surtos de fotossensibilização nestes animais (Abdullah et al. 1992, Driemeier et al. 2002). Os surtos eram atribuídos, anteriormente, à presença do fungo *Pithomyces chartarum*, pela produção da micotoxina esporidesmina (Camargo et al. 1976), mas estudos têm relacionado o problema à participação de saponinas esteroidais, presentes na *B. decumbens*, já que um fator comum para toda fotossensibilização associada à ingestão de saponinas esteroidais é o acúmulo de sais insolúveis, sob forma de cristais (Graydon et al. 1991) de glicuronídeos de epismilagenina e episarsasapogenina nas células hepáticas e ductos biliares (Miles et al. 1993, Miles et al. 1994). Haraguchi et al. (2003) sugerem que a saponina protodioscina é a principal causa da doença, nesta planta.

A intoxicação por *B. decumbens* ocorre em bovinos (Nobre & Andrade 1976, Opasina 1985, Abdullah et al. 1989, Rowe 1989, Lemos et al. 1996a, Lemos et al. 1996c, Lemos et al. 1997, Driemeier et al. 1998, Driemeier et al. 1999), ovinos (Graydon et al. 1991, Abdullah et al. 1992, Lajis et al. 1993, Lemos et al. 1996b, Abdullah & Rajion 1997, Lemos et al. 2008, Cruz et al. 2000, Driemeier et al. 2002, Brum et al. 2007), caprinos (Opasina 1985, Lemos et al. 1998), bubalinos (Rozza et al. 2004, Riet-Correa et al. 2007) e eqüinos (Barbosa et al. 2006).

Os animais mais jovens ou recém-desmamados apresentam maior susceptibilidade do que os adultos (Albernaz et al. 2008, Santos et al. 2008), os ovinos são mais susceptíveis que os bovinos à intoxicação e a espécie ovina de qualquer idade pode estar sujeita ao problema (Lemos et al. 1996b, Santos et al. 2008). Há relatos de que animais que têm contato com a *B. decumbens* pela primeira vez são mais susceptíveis, com poucos estudos que demonstrem a existência de animais mais resistentes por mecanismos de adaptação ou se ocorre algum tipo de seleção natural dos mais resistentes (Riet-Correa et al. 2007).

A intoxicação causa quadro de fotossensibilização hepatógena caracterizada clinicamente por edema de face com formação de crostas ao redor dos olhos e orelhas (Abdullah et al. 1989, Graydon et al. 1991, Lemos et al. 1996b, Brum et al. 2007, Albernaz et al. 2008, Mendonça et al. 2008), icterícia (Abdullah & Rajion 1997), opacidade de córnea (Brum et al. 2007, Opasina 1985) e secreção nasal além de ocular com aspecto seroso (Mendonça et al. 2008, Brum et al. 2007). São relatadas elevações

nas atividades séricas de GGT (Brum et al. 2007, Albernaz et al. 2008, Mendonça et al. 2008, Santos Junior et al. 2008), AST (Santos Junior et al. 2008), além dos níveis de bilirrubina (Brum et al. 2007, Albernaz et al. 2008, Mendonça et al. 2008, Santos Junior et al. 2008), mas em situações pontuais e sem sistematização de coleta de dados em surtos e experimentos (Lemos et al. 1997, Brum et al. 2007, Mendonça et al. 2008).

Nos achados de necropsia são encontrados icterícia generalizada, fígado aumentado de volume com padrão lobular evidenciado e vesícula biliar repleta e distendida com bile espessada (Opasina 1985, Lemos et al. 1996c). Na histopatologia encontram-se bilestase, tumefação e vacuolização de hepatócitos (Abdullah et al. 1989, Santos Junior et al. 2008), proliferação de ductos e canalículos biliares, sinusóides preenchidos por macrófagos, infiltrado linfocítico, além da presença de cristais birrefringentes em ductos biliares, dentro de hepatócitos e macrófagos (Cruz et al. 2000, Driemeier et al. 2002, Brum et al. 2007, Mendonça et al. 2008).

O tratamento da fotossensibilização é sintomático e inclui a colocação do animal na sombra, o controle da infecção secundária, a remoção dos animais da forrageira, a manutenção do estado de hidratação, o acesso a eletrólitos, além da administração de antiinflamatórios não-esteróides e antibióticos nos casos graves (Pugh 2004) e protetores hepáticos (soro glicosado, compostos a base de metionina, etc) (Riet-Correa et al. 2007).

O presente trabalho teve por objetivo descrever o quadro clínico, patológico, a importância da avaliação bioquímica sérica e as diferenças entre períodos em modelo experimental de intoxicação por *B. decumbens* em ovinos confinados em diferentes épocas do ano no Mato Grosso do Sul.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais e manejo

Utilizaram-se, em cada período, oito ovinos mestiços da raça Santa Inês com média de três meses de idade, sendo quatro machos e quatro fêmeas, recentemente desmamados, pesando entre 22 e 25 quilos, oriundos de propriedade que não utilizava a *B. decumbens* como fonte alimentar. Os animais foram mantidos em baias teladas de 60 metros quadrados com piso de brita moída. A baia possuía área ao ar livre e também cobertura consistindo de uma pequena casa de 1,5 metros de largura por 2,0 metros de comprimento para proteção de eventuais chuvas. Os animais permaneciam expostos ao sol durante o dia e eram recolhidos para a área coberta no período noturno. Os ovinos foram vermifugados com levamisol (Calbos Injetável^{®**}, 1ml/20kg de peso vivo) no início do experimento e receberam nova aplicação com o mesmo produto 30 dias após a primeira dose. Todos os ovinos foram identificados com brincos contendo códigos numéricos de 01 a 08, 09 a 16 e 17 a 24, respectivamente para cada período.

Tratamentos e períodos experimentais

O estudo foi realizado em três períodos do ano com 60 dias de duração cada, com animais distintos nos períodos. O primeiro período foi realizado entre os meses de fevereiro e abril de 2008; o segundo entre os meses de junho e agosto e o terceiro entre outubro e dezembro do mesmo ano. Para todos os períodos, a pastagem utilizada foi *Brachiaria decumbens* colhida de canteiros com 140 m², previamente cultivados e água *ad libitum*. No primeiro e segundo a planta estava verde, com sementes e medindo aproximadamente 55 centímetros de altura. No terceiro período, apesar da mesma encontrar-se verde, não foram constatadas sementes. Em todos os períodos experimentais, a forrageira foi cortada a uma altura aproximada de 10 centímetros do solo, pesada e fornecida aos ovinos imediatamente após o corte. Foram utilizados cochos com 1,45 m de comprimento por 35 cm de largura e 18 cm de profundidade, e ofertada aos animais em três administrações diárias às 7, 13 e 17h. O fornecimento da pastagem foi feito de forma que não houvesse sobras após o consumo, de modo que, diariamente, a quantidade de braquiária fornecida fosse sempre ajustada.

Amostras da pastagem foram coletadas aleatoriamente em cada período para pesquisa de esporos de *Pithomyces chartarum* e acordo Di Menna & Bailey (1973).

^{**}Produto fabricado pelas Indústrias Calbos[®]

Análise de enzimas hepáticas

Amostras de sangue foram colhidas pela venopunção da jugular e colocadas em tubos de ensaio envolvidos por papel laminado sem substância anticoagulante, mantidos em temperatura ambiente e encaminhadas para o laboratório de Patologia Clínica Veterinária da UNIGRAN – Centro Universitário da Grande Dourados, para centrifugação e extração do soro. Análises bioquímicas de AST (aspartato aminotransferase), BD (bilirrubina direta) e GGT (gama-glutamilttransferase) foram realizadas utilizando-se kits comerciais da Analisa^{®*}. A determinação da atividade sérica da enzima AST, se deu através do método colorimétrico Reitman-Frankel, a mensuração dos valores de bilirrubina pelo método colorimétrico Sims-Horn (Burtis & Ashwood 1998). Ambas as leituras foram feitas com aparelho Spectrumlab 22PC[®]. Por fim, o teste para mensuração da atividade sérica de GGT foi realizada pelo método cinético colorimétrico Szasz modificado (Szasz 1969) e realizada leitura com analisador bioquímico semi-automatizado Bio-Plus[®], modelo Bio-200[®].

Exame clínico e necroscópico

Diariamente os animais foram submetidos a exame clínico e observados quanto ao comportamento. Nos animais que morreram realizou-se necropsia com coleta de fragmentos de diversos órgãos, os quais foram fixados em formol 10%, feito processamento histopatológico de rotina, cortados a cinco micrômetros e corados com hematoxilina-eosina.

Análise estatística

A análise estatística foi feita pela comparação da atividade enzimática de GGT, AST, e os níveis séricos de BD entre os períodos experimentais de acordo com a sobrevivência ou não dos animais, usando-se análise de variância, modelo linear multivariado (teste de Duncan, para $P < 0,05$), para os efeitos principais e interativos. Para análise de correlação entre enzimas e entre estas com as mortes observadas em todos os períodos, os dados foram previamente classificados de acordo com a elevação ou não do perfil enzimático e a presença ou não de morte (0 e 1, respectivamente). Esta análise foi feita pelo método bivariado, modelo não paramétrico de Spearman para $P < 0,05$.

*Analisa: marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda

RESULTADOS

O consumo médio diário estimado de *B. decumbens* por animal foi de 4,5 quilos, e causou sinais clínicos da intoxicação e morte de onze ovinos (01, 02, 03, 04, 07, 09, 10, 11, 14, 18 e 19), correspondendo a 45,8% de morbidade e 100% de letalidade. No primeiro e segundo períodos, ocorreram 5 e 4 mortes, respectivamente, períodos em que haviam sementes na planta, enquanto no terceiro, 2 mortes e não foram encontradas sementes, apesar da planta sempre encontrar-se verde. Dos 11 animais acometidos, apenas 2 apresentaram lesões de pele e 10 apresentaram fotofobia como principais sinais clínicos. Nos achados de necropsia e histopatológicos foram identificados icterícia em todos os animais variando de leve a severa, e a presença de macrófagos preenchendo sinusóides hepáticos, junto com tumefação e vacuolização de hepatócitos foram encontrados em todos os animais necropsiados, assim como descrito no Quadro 1. Os intervalos de dias entre o início da ingestão e surgimento dos sinais clínicos estão descritos no Quadro 2. O menor intervalo encontrado foi de 20 dias e o maior de 62 dias.

As atividades séricas das enzimas GGT e AST, assim como os níveis de BD foram analisados utilizando-se as médias com respectivos desvios padrões dos três períodos, associando-as a sobrevivência ou morte dos ovinos. Estes resultados estão descritos no Quadro 3 e podem ser visualizados graficamente na Figura 1. Em todas as enzimas testadas, verificou-se efeito significativo ($P < 0,05$) entre os sobreviventes e os mortos, dentro de cada período experimental e entre períodos experimentais.

Das enzimas estudadas, a elevação da AST não apresentou correlação significativa com o óbito dos animais, ao contrário da GGT e BD (Quadro 4). Apesar da grande variação, os sinais clínicos apareceram, em média, 11 dias após o começo da elevação da atividade de GGT como demonstrado no Quadro 5.

Em todas as amostras de forragem colhidas para contagem de esporos de *Pithomyces chartarum*, os resultados foram inferiores a 5000 esporos por grama de pastagem verde.

Quadro 1. Principais sinais clínicos, achados de necropsia e histopatologia encontrados em ovinos confinados que morreram intoxicados por *B. decumbens* no Mato Grosso do Sul

Sinais clínicos	Períodos ^a		
	1º n=8	2º n=8	3º n=8
Óbitos	5	4	2
Anorexia	5	4	2
Apatia	5	3	2
Desidratação	2	3	2
Fotofobia	5	3	2
Inquietação	5	1	0
Lesão de pele	1	0	1
Prurido de face	5	1	0
Achados de necropsia			
Icterícia	5	4	2
Opacidade de córnea	1	1	0
Padrão lobular hepático evidente	4	0	1
Vesícula biliar repleta e distendida	5	4	1
Histopatologia			
Bilestase	5	3	2
Infiltrado linfocítico	5	3	1
Proliferação de ductos e canalículos biliares	5	2	1
Sinusóides preenchidos por macrófagos	5	4	2
Tumefação e vacuolização de hepatócitos	5	4	2

Quadro 2. Número de dias entre início do experimento e surgimento dos sinais clínicos.

	Primeiro animal	Último animal
1º período	20	52
2º período	28	62
3º período	32	38

Quadro 3. Comparação média entre diferentes variáveis bioquímicas de acordo com a sobrevivência em cada período experimental em ovinos que consumiram *B. decumbens* em sistema de confinamento no Mato Grosso do Sul em 2008

Variável	1º Período		2º Período		3º Período	
	Mortos n=5	Sobreviv. n=3	Mortos n=4	Sobreviv. n=4	Mortos n=2	Sobreviv. n=6
GGT	83,8 ± 12,5 ^{A*}	55,3 ± 11,0 ^B	90,5 ± 10,3 ^{A*}	62,0 ± 10,3 ^B	69,1 ± 10,0 ^A	40,6 ± 12,8 ^B
AST	95,4 ± 7,5 ^{A*}	65,4 ± 6,6 ^A	86,6 ± 6,1 ^{A*}	56,6 ± 6,1 ^A	103,8 ± 6,0 ^{A*}	73,7 ± 7,7 ^B
BD	0,64 ± 0,15 ^{A*}	0,25 ± 0,17 ^B	0,44 ± 0,14 ^A	0,05 ± 0,01 ^B	0,42 ± 0,17 ^A	0,03 ± 0,01 ^B

GGT=gamaglutamiltransferase, AST = aspartatoaminotransferase, BD = bilirrubina direta

*= P<0,05 entre períodos experimentais; AB = P<0,05 entre a sobrevivência dentro do período

Sobreviv.= sobreviventes

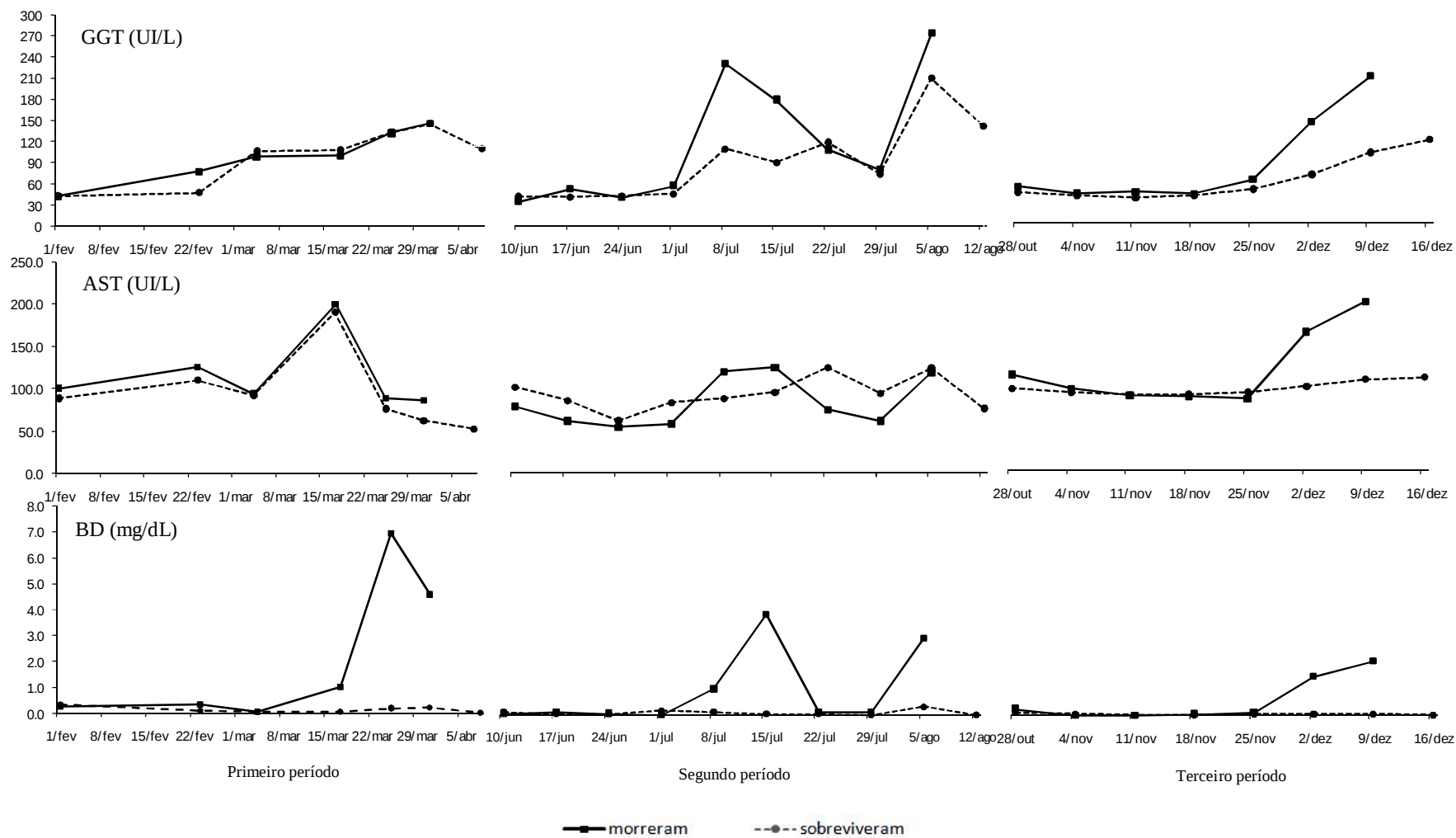


Figura 1. Comparação do perfil médio da GGT (gamaglutamiltransferase), AST (aspartatoaminotransferase) e BD (bilirrubina direta) entre ovinos confinados que morreram ou sobreviveram após ingestão de *Brachiaria decumbens* de acordo com a época do ano no Mato Grosso do Sul.

Quadro 4. Correlação (Spearman) entre variáveis bioquímicas e morte em ovinos que consumiram *B. decumbens* em sistema de confinamento no Mato Grosso do Sul

	ÓBITO	AST	BD
GGT	48*	ns	74**
AST	ns	-	-
BD	65**	-	-

GGT=gamaglutamiltransferase, AST = aspartatoaminotransferase, BD = bilirrubina direta

*P<0,05 e **P<0,01. ns: não significativo.

Quadro 5. Intervalo total, e média de dias para o aparecimento de elevação da atividade bioquímica de acordo com os sinais clínicos em ovinos que morreram após consumo de *B. decumbens* em sistema de confinamento no Mato Grosso do Sul

Período	Animal	Intervalo de dias				
		GGT ^A	AST ^A	BD ^A	Sinais clínicos ^B	GGT ^C
1 01/02 ã 08/04	1	33	47	47	43	10
	2	23	47	54	52	29
	3	23	Xx**	22	20	-3*
	4	33	47	46	48	15
	7	23	23	23	21	-2*
2 10/06 ã 12/08	9	21	28	28	28	7
	10	14	35	35	30	16
	11	28	28	28	28	0
	14	28	56	56	62	34
3 28/10 ã 16/12	18	29	36	36	32	3
	19	29	43	43	38	9
Média						10,7

GGT=gamaglutamiltransferase, AST = aspartatoaminotransferase, BD = bilirrubina direta

^ADias decorridos entre o início de fornecimento da *Brachiaria decumbens* até a constatação de elevação das atividades séricas e níveis das respectivas substâncias.

^BDias decorridos entre o início de fornecimento da pastagem até a constatação dos sinais clínicos em cada animal.

^CIntervalo de dias encontrado entre a constatação da elevação da atividade sérica da GGT.

*Valor negativo devidos os sinais clínicos terem sido constatados antes da elevação da atividade da GGT.

**Xx significa que o animal 3 no início do experimento já apresentava valores elevados de AST, não sendo possível realizar sua avaliação quanto a esta enzima.

DISCUSSÃO

Os dados encontrados na literatura sobre intoxicação por braquiárias são referentes a criações extensivas em sistema de pastoreio (Brum et al. 2007, Mendonça et al. 2008). Os modelos para reprodução experimental da doença descritos utilizam como metodologia a introdução dos animais em pastagens de *B. decumbens* sob condições controladas (Cruz et al. 2000, Driemeier et al. 2002, Albernaz et al. 2008, Santos Junior et al. 2008) ou com administração de extratos fracionados da planta (Cruz et al. 2000). O presente trabalho foi realizado no sistema de confinamento no qual se puderam diminuir as variáveis que ocorrem

em situações de campo e que demonstrou ser eficiente para a reprodução experimental da intoxicação.

A planta demonstrou ser tóxica para os ovinos nas quantidades consumidas uma vez que os sinais clínicos iniciaram nos primeiros 30 dias de ingestão da pastagem o que também é relatado na literatura. Surtos espontâneos da intoxicação são descritos após 07 dias (Santos Junior et al. 2008), 14 dias (Albernaz et al. 2008) e 21 dias (Graydon et al. 1991) da introdução na pastagem.

No presente estudo o primeiro e o segundo períodos demonstraram ser mais importantes no modelo experimental apresentado. Dos 8 animais utilizados em cada período, houveram 5 acometidos no primeiro, 4 no segundo e apenas 2 no terceiro. Também foi encontrada diferença significativa dos níveis de atividade sérica de GGT no primeiro e segundo períodos em comparação com o terceiro e diferença significativa dos níveis séricos de BD entre o primeiro e os demais períodos. Este fato talvez possa ser explicado pela presença de sementes na planta no primeiro e segundo períodos e sua ausência no terceiro, já que Brum et al. (2004) relatam que na fase de queda das sementes a concentração de saponina protodioscina é maior em comparação às fases de crescimento, floração e frutificação, visto que Haraguchi et al. (2003) sugerem que a protodioscina é a principal causa da doença, nesta planta, havendo corroboração com a literatura consultada.

Os dados clínicos obtidos condizem com a literatura pesquisada (Graydon et al. 1991, Brum et al. 2007, Albernaz et al. 2008, Mendonça et al. 2008, Santos Junior et al. 2008) sobre a intoxicação por *B. decumbens*. Dos animais acometidos, a maioria apresentou apatia (10/11), anorexia (11/11) e fotofobia (10/11), como descrito em relatos de fotossensibilização associada à ingestão desta planta (Graydon et al. 1991). No presente estudo, foram observadas lesões de pele discretas em apenas dois ovinos, diferente da maioria dos relatos que descreveram a ocorrência de lesões características de fotossensibilização como edema de face e orelhas, evoluindo para formação de crostas e desprendimento da pele (Abdulah et al. 1989, Graydon et al. 1991, Brum et al. 2007, Albernaz et al. 2008, Mendonça et al. 2008), provavelmente pelo fato de todos serem de pelagem escura. Santos Junior et al. (2008) também observaram baixa frequência de lesões de pele, onde de 12 animais intoxicados apenas um apresentou erosão e ulceração da pele sendo o único que possuía pelagem clara. Além disso, nenhum ovino de pelagem escura apresentou lesões ulcerativas ou erosivas na pele durante o experimento. Graydon et al. (1991) também relatam em estudo com ovinos que de 10 animais utilizados, 2 eram de pelagem escura e não apresentaram sinais clínicos de intoxicação.

Os resultados apresentados na Quadro 3, referentes ao perfil médio da atividade das enzimas estudadas, claramente sugerem que, nos animais que apresentaram sinais de intoxicação, há um aumento significativo quando comparado com os animais que não adoeceram, apesar de existirem casos de elevação sem surgimento dos sinais clínicos (Anexo). O comportamento enzimático dos sobreviventes pode estar relacionado com a capacidade de detoxificação das saponinas, ou seja, às diferenças individuais apresentadas por estes ovinos do rebanho, ou, por outro lado, devido a resistência/tolerância que estes animais que não adoeceram possam ter no intervalo estabelecido (Castro et al. 2007). Pode-se demonstrar assim, que existem animais mais resistentes à intoxicação pela *B. decumbens*, pois sofrem a ação hepatotóxica da forragem, mas conseguem superar os efeitos prejudiciais da toxina (Santos Junior et al. 2008).

A bilirrubina direta apresentou elevação de seus níveis séricos devido ao comprometimento do sistema biliar e obstrução do fluxo, resultando em refluxo de bilirrubina conjugada ao sangue. Doenças hepáticas (como a inflamação) que comprometem mais o parênquima que o sistema biliar também pode causar essa lesão. Nessas doenças a tumefação de hepatócitos provoca obstrução de pequenos canalículos biliares e impedem o fluxo biliar normal (Thrall et al. 2006). O fígado foi o órgão mais acometido, e isto foi comprovado pelos achados de necropsia e histopatológico, principalmente pela observação macroscópica de icterícia generalizada (Albernaz et al. 2008, Mendonça et al. 2008) e presença de tumefação de hepatócitos e bilestase (Brum et al. 2007, Santos Junior et al. 2008).

A elevação das atividades de GGT é descrita tanto em casos espontâneos (Brum et al. 2007, Mendonça et al. 2008) como em casos de reprodução experimental (Albernaz et al. 2008, Santos Junior et al. 2008). Entretanto, a maioria destes trabalhos avalia situações de surtos pontuais coincidentes com as manifestações clínicas. O aumento da atividade da GGT está fortemente relacionado à ocorrência de bilestase, pois é uma enzima de indução, ou seja, está presente nas membranas celulares e o aumento de sua produção pode ser tanto devido a um estímulo que resulta em maior liberação pelas células, como pela liberação de fragmentos de membranas que contêm esta enzima. Isto ocorreu visto que a ação detergente dos ácidos biliares na bilestase resultou em solubilização da enzima aderida à membrana celular e elevação de sua atividade no soro sanguíneo. Além disso, em ruminantes, por possuir faixa limitada de normalidade, a GGT torna-se mais sensível e específica que a fosfatase alcalina no diagnóstico de bilestase (Thrall et al. 2006). Portanto, a observação de bilestase encontrada no presente trabalho sugere a elevação de atividade sérica de GGT. Corrobora esta sugestão o aumento observado na atividade de GGT que ocorreu, em média, 11 dias antes da observação

da sintomatologia clínica. Deste modo, em situações de obstrução do sistema biliar, as atividades séricas de GGT são indicadores mais sensíveis de bilestase em comparação com a concentração sérica de bilirrubina, pois as atividades dessas enzimas tendem a aumentar mais rapidamente do que o teor sérico de bilirrubina. Isto fica demonstrado quando se observa que os níveis séricos de bilirrubina direta sobem em períodos próximos à constatação dos sinais clínicos.

Em relação à AST a ausência da elevação da atividade desta enzima, pode ser justificada pelo fato de não ser uma enzima específica para se estudar a obstrução dos ductos biliares, visto que está presente em maior concentração nos hepatócitos, nas células musculares (Thrall et al. 2006) e nas hemácias (Kerr 2003).

Os resultados obtidos evidenciam que tanto a elevação da atividade sérica da GGT como dos níveis da BD aumentaram o risco de morte nesta intoxicação. Adicionalmente, quando estas duas variáveis são analisadas conjuntamente fornecem uma idéia ainda mais precisa sobre a intoxicação. Esta observação possui evidência prática na prevenção de mortes em casos de intoxicação.

Os achados de necropsia foram semelhantes nos ovinos e estão de acordo com relatos de intoxicação espontânea e experimental nesta espécie (Brum et al. 2007, Albernaz et al. 2008, Mendonça et al. 2008). Salienta-se a ocorrência de icterícia severa na maioria dos ovinos necropsiados, enquanto outros autores descrevem a ausência de icterícia ou sua ocorrência em grau leve a moderado (Santos Junior et al. 2008).

Os achados histológicos encontrados corroboram com a literatura pesquisada sobre relatos da intoxicação espontânea ou experimental. Estas descrições também mencionam bilestase (Mendonça et al. 2008), infiltrado linfocítico (Graydon et al. 1991, Cruz et al. 2000, Brum et al. 2007, Albernaz et al. 2008, Mendonça et al. 2008, Santos Junior et al. 2008), proliferação de ductos e canalículos biliares (Cruz et al. 2000, Brum et al. 2007, Mendonça et al. 2008), sinusóides preenchidos por macrófagos (Driemeier et al. 2002, Brum et al. 2007, Albernaz et al. 2008, Santos Junior et al. 2008) e tumefação e vacuolização de hepatócitos (Brum et al. 2007, Albernaz et al. 2008, Santos Junior et al. 2008) como observados no presente trabalho. Apesar da literatura descrever a presença de cristais birrefringentes em ductos biliares, dentro de hepatócitos e macrófagos Cruz et al. 2000, Mendonça et al. 2008), os mesmos não foram encontrados nas lâminas de fígado do presente estudo. A metodologia empregada utilizou microscopia óptica, mas Santos Junior et al. (2008) e Driemeier et al. (2002) relatam sobre a visualização dos cristais, com uso da microscopia eletrônica, e descrevem hiperplasia de retículo endoplasmático liso nos hepatócitos com presença de

cristais aculiformes envoltos por membranas no interior do citoplasma. Santos Junior et al. (2008) também relatam macrófagos com citoplasma de aspecto espumoso, apresentando estruturas semelhantes às encontradas nos hepatócitos. Isto poderia ocorrer no presente estudo, caso fossem utilizadas as mesmas metodologias com uso de microscopia eletrônica.

CONCLUSÃO

Baseado nos resultados apresentados, conclui-se que o modelo de confinamento de ovinos tendo como fonte alimentar apenas a *B. decumbens* demonstrou ser eficaz na reprodução experimental de intoxicação pela forrageira; a GGT é uma enzima que pode ser utilizada como prova bioquímica sérica na prevenção de mortes de ovinos que ingerem a planta; podem existir animais tolerantes/resistentes à intoxicação; podem existir animais que não apresentam lesões de pele e nem cristais visíveis pela microscopia óptica, mesmo sofrendo a intoxicação; e há diferença entre os períodos estudados, onde o período com sementes demonstrou ser mais tóxica.

Agradecimentos – À Escola de Qualificação Rural (EQUALI) pelo apoio técnico e ao CNPQ pelo apoio financeiro através do Projeto Millenium.

REFERÊNCIAS

- Abdullah A.S., Noordin M.M. & Rajion M.A. 1989. Neurological disorders in sheep during signal grass (*Brachiaria decumbens*) toxicity. Vet. Hum. Toxicol. 31(2):128-29.
- Abdullah A.S., Lajis N.H., Davies J.B.B., Rajion M.A. & Mustapha W. 1992. Hepatotoxic constituents in the rumen of *Brachiaria decumbens* intoxicated sheep. Vet. Hum. Toxicol. 34(2):154-155.
- Abdullah A.S. & Rajion M.A. 1997. Dietary factors affecting entero-hepatic function of ruminants in the tropics. Animal Feed Science and Technology 69:83-86.
- Albernaz T.T., Silveira J.A.S., Reis A.S.B., Oliveira C.H.S., Oliveira C.M.C., Duarte M.D., Cerqueira V.D., Riet-Correa G. & Barbosa J.D. 2008. Fotossensibilização em ovinos associada à ingestão de *Brachiaria brizantha* no Pará. Anais... ENDIVET. Campo Grande p.73-74.
- Barbosa J.D., Oliveira C.M.C., Tokarnia C.H. & Peixoto P.V. 2006. Fotossensibilização hepatógena em eqüinos pela ingestão de *Brachiaria humidicola* (Graminae) no Estado do Pará. Pesq. Vet. Bras. 26(3):147-153.
- Brum K.B., Haraguchi M., Garutti M.B., Nóbrega F.N. & Rosa M.C. 2004. Análise semiquantitativa da saponina protodioscina do ciclo vegetativo de *Brachiaria decumbens* e *B. brizantha*. Pesq. Vet. Bras. 24:13-14.
- Brum K.B., Haraguchi M., Lemos R.A.A., Riet-Correa F. & Fioravanti M.C.S. 2007. Crystal-associated cholangiopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens* containing the saponin protodioscin. Pesq. Vet. Bras. 27(1):39-42.
- Burtis C.A. Ashwood E.R. 1998. Fundamento da Química Clínica. 4ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Camargo W.V.A., Nazario W. & Fernández N.S. 1976. Fotossensibilização em bovinos de corte. Biológico, São Paulo, 42(5):249-261.
- 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. 2007. Susceptibilidade de ovinos a intoxicação por *Brachiaria decumbens*. V Congresso Latinoamericano de Especialistas em Pequenos Rumiantes y Camélidos Sudamericanos.
- Cruz C., Driemeier D., Pires V.S., Colodel E.M., Taketa A.T.C. & Schenkel E.P. 2000. Isolation of steroidal sapogenins implicated in experimentally induced cholangiopathy of sheep grazin *Brachiaria decumbens* in Brazil. Vet. Hum. Toxicol. 42(3):142-45.

- Di Menna M.E. & Bailey J.R. 1973. *Pithomyces chartarum* spore counts in pasture. N.Z. Journal of Agricultural Research 16:343-51.
- Driemeier D., Barros S. S., Peixoto P. V., Tokarnia C. H., Döbereiner J. & Brito M. F. 1998. Estudos histológico, histoquímico e ultra-estrutural de fígados e linfonodos de bovinos com presença de macrófagos espumosos (ófoam cellsô). Pesq. Vet. Bras. 18(1):29-34.
- Driemeier D., Döbereiner J., Peixoto P.V. & Brito M.F. 1999. Relação entre macrófagos espumosos (ófoam cellsô) no fígado de bovinos e ingestão de *Brachiaria* spp no Brasil. Pesq. Vet. Bras. 19(2):79-83.
- Driemeier D., Colodel E.M., Seitz A.L., Barros S.S. & Cruz C.E.F. 2002. Study of experimentally induced lesions in sheep by grazing *Brachiaria decumbens*. Toxicon 40:1027-1031.
- Graydon R.J., Hamid H., Zahari P. & Gardiner C. 1991. Photosensitization and crystal-associated colangiohepatopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens*. Aust. Vet. J. 68:234-236.
- Haraguchi M., Cunha H.A., Mimaki Y., Brum K.B., Lemos R.A.A., Yokosuka A. & Sashida Y. 2003. Furostanol glicosídicos nas folhas de *Brachiaria decumbens*. 26ª Reun. Anu. Soc. Bras. Química, Poços de Caldas, MG. PN-066.
- Kerr M.G. 2003. Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária: Bioquímica Clínica e Hematologia. 2ª ed. São Paulo: Roca, 436p.
- Lajis N.H., Abdullah S.A., Salim J.S., Bremmer J.B. & Khan M.N. 1993. Epi-sarsasapogenin and epi-smilagenin isolated from the rumen content of sheep intoxicated by *Brachiaria decumbens*. Steroids 58:387-389.
- Lemos R.A.A., Osório A.L.A.R., Rangel J.M.R. & Herrero Junior G.O. 1996a. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em bezerros ingerindo *Brachiaria brizantha*. Arqs Inst. Biol. São Paulo, 63(supl):22.
- Lemos R.A.A., Ferreira L.C.L., Silva S.M., Nakazato L. & Salvador S.C. 1996b. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em ovinos em pastagem com *Brachiaria decumbens*. Ciência Rural, Santa Maria, 26(1):109-13.
- Lemos R.A.A., Oliveira V.A., Herrero Junior G.O., Ferreira M.B. & Almeida A.J. 1996c. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em bovinos lactentes associada à ingestão de *Brachiaria decumbens*. Abstracts: XV PANVET. Abstracts... Campo Grande, 1. p.170.

- Lemos R.A.A., Salvador S.C. & Nakazato L. 1997. Photosensitization and crystal-associated cholangiohepatopathy in cattle grazing *Brachiaria decumbens* in Brazil. *Vet. Hum. Toxicol.* 39(6):376-377.
- Lemos R.A.A., Nakazato L., Herrero Junior G.O., Silveira A.C. & Porfírio L.C. 1998. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em caprinos mantidos sob pastagens de *Brachiaria decumbens* no Mato Grosso do Sul. *Ciência Rural*, Santa Maria, 28(3):507-510.
- Lemos R.A.A. & Leal C.R.B. 2008. Doenças de impacto econômico em bovinos de corte: perguntas e respostas. Campo Grande-MS: Ed. UFMS p. 232-36.
- Mendonça F.S., Camargo L.M., Freitas S.H., Dória R.G.S., Baratella-Evêncio L. & Neto J.E. 2008. 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* 9(4):1034-1041.
- Miles C.O., Wilkins A.L., Munday S.C., Flayoen A., Holland P.T. & Smith B.L. 1993. Identification of insoluble salts of the •-D-glucuronides of episarsasapogenin and epismilagenin in the bile of lambs with alved and examination of *Nartheicum ossifragum*, *Tribulus terrestris* and *Panicum miliaceum* for sapogenins. *J. Agric. Food Chem.* 41(6):914-917.
- Miles C.O., Wilkins A.L., Erasmus G.L. & Kellerman T.S. 1994. Photosensitivity in South Africa. VIII Ovine metabolism of *Tribulus terrestris* saponins during experimentally induced geeldikkop. *Onderstepoort Journal of Veterinary* 61(4):351-59.
- Nobre D. & Andrade S.O. 1976. Relação entre fotossensibilização em bovinos jovens e a gramínea *Brachiaria decumbens* Stapf. *Biológico*, São Paulo, 42:249-258.
- Opasina B.A. 1985. Photosensitization jaundice syndrome in west African dwarf sheep and goats grazed on *Brachiaria decumbens*. *Tropical Grasslands* 19(3):120-123.
- Pugh D.G. 2004. Clínica de Ovinos e Caprinos. 1ª ed. São Paulo: Roca 513p.
- Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. 2007. Doença de Ruminantes e eqüídeos. Santa Maria: Pallotti 3ª ed. 2:694.
- Rozza D.B., Seitz A.L., Santos E.O. & Driemeier D. 2004. Fotossensibilização por *Brachiaria decumbens* em búfalo. *Pesq. Vet. Bras.* 24(supl):55-56.
- Rowe L. D. 1989. Photosensitization problems in livestock. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 5(2):301-319.

- Santos J.C.A., Riet-Correa F., Simões S.V.D. & Barros C.S.L. 2008. Patogênese, sinais clínicos e patologia das doenças causadas por plantas hepatotóxicas em ruminantes e eqüinos no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 28(1):1-14.
- Santos Junior H.L., Moscarini A.R.C., Paludo G., Riet-Correa F., Borges J.R.J & Castro M.B. 2008. Toxicidade de diferentes estágios de crescimento da *Brachiaria decumbens* a ovinos. *Anais... ENDIVET.* Campo Grande p. 135-136.
- Szasz G. 1969. *Clin Chem* 15:124.
- Thrall M.A., Baker D.C., Campbell T.W., DeNicola D., Fettman M.J., Lassen E.D., Rebar A. & Weiser G. 2006. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária.* Roca 582p.

6 ANEXOS

Datas de coleta com devidos resultados para mensuração de AST (60 a 280 U/L^A), GGT (20 a 52 U/L^A) e BD (0,0 a 0,27 mg/dl^A) no primeiro período experimental.

AST	1/fev	23/fev	4/mar	17/mar	25/mar	31/mar	8/abr
1	87	95	95	>200	○	○	○
2	88	114	94	>200	89	○	○
3	>190	120	○	○	○	○	○
4	100	98	93	>200	88	86	○
5	85	115	94	186	78	60	49
6	73	114	90	185	85	61	50
7	35	200	○	○	○	○	○
8	109	102	92	>200	67	66	60
GGT							
1	42,2	46,6	84,4	89	○	○	○
2	44,4	54,4	87,7	88,6	120,2	○	○
3	44,4	58,8	○	○	○	○	○
4	45,5	48,8	124,4	122,9	144	146	○
5	42,2	45,5	48,8	49,6	55	66,7	82,2
6	46,6	53,3	47,7	47,4	45,2	48,8	41,1
7	35,5	178,9	○	○	○	○	○
8	41,1	43,3	223,2	227,3	301,4	322,1	208,9
BD							
1	0,56	0,04	0,04	1,61	○	○	○
2	0,17	0,04	0,04	0,04	9,3	○	○
3	0,48	0,78	○	○	○	○	○
4	0,08	0,04	0,21	1,39	4,62	4,6	○
5	0,08	0,13	0,08	0,08	0,26	0,34	0,04
6	0,69	0,08	0,04	0,04	0,04	0,13	0,04
7	0,04	0,87	○	○	○	○	○
8	0,17	0,08	0,13	0,13	0,26	0,3	0,08

^AValores de referência por Kaneko et al. (1997).

○ → óbito

Datas de coleta com devidos resultados para mensuração de AST (60 a 280 U/L^A), GGT (20 a 52 U/L^A) e BD (0,0 a 0,27 mg/dl^A) no segundo período experimental.

AST	10/jun	17/jun	24/jun	1/jul	8/jul	15/jul	22/jul	29/jul	5/ago	12/ago
9	58	55	63	49	156	○	○	○	○	○
10	69	70	51	61	101	>190	○	○	○	○
11	102	62	60	68	>150	○	○	○	○	○
12	123	98	86	77	>150	105	149	101	186	106
13	80	85	55	83	4	92	126	96	112	77
14	83	58	43	52	74	60	75	61	119	○
15	104	81	60	90	96	97	119	85	92	62
16	100	79	44	84	105	88	105	96	102	58
GGT										
9	43,3	73,3	32,2	95,5	400	○	○	○	○	○
10	35,5	41,1	59,9	63,3	187,8	165,5	○	○	○	○
11	25,5	30	27,7	32,2	253,3	○	○	○	○	○
12	34,4	40	33,3	50	261,1	182,2	251,1	185,5	445	310
13	34,4	40	43,3	46,6	62,2	38,8	52,2	30	59,9	45,5
14	32,2	63,3	41,1	36,6	81,1	192,2	107,8	79,9	273,3	○
15	55,5	58,8	58,8	56,6	61,1	33,3	46,6	23,3	101,1	46,1
16	38,8	23,3	32,2	26,6	50	103,3	122,2	53,3	230	163,4
BD										
9	0,08	0,21	0,08	0,04	2,67	○	○	○	○	○
10	0,08	0,04	0,08	0,04	0,13	8,12	○	○	○	○
11	0,04	0,17	0,04	0	1,39	○	○	○	○	○
12	0,08	0,08	0,04	0,04	0,3	0,08	0,13	0,04	1,31	0,02
13	0,04	0,04	0,08	0,61	0,08	0,04	0,08	0,04	0,04	0,03
14	0,04	0,04	0,04	0	0	0,04	0,13	0,13	3,05	○
15	0,26	0,08	0,04	0,04	0,08	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03
16	0,04	0,04	0,04	0,08	0,04	0,08	0,04	0,04	0,04	0,04

^AValores de referência por Kaneko et al. (1997).

○ → óbito

Datas de coleta com devidos resultados para mensuração de AST (60 a 280 U/L^A), GGT (20 a 52 U/L^A) e BD (0,0 a 0,27 mg/dl^A) no terceiro período experimental.

AST	28/out	4/nov	11/nov	18/nov	25/nov	2/dez	9/dez	16/dez
17	82	95	88	93	108	134	132	120
18	112	89	73	79	81	>200	○	○
19	115	104	104	95	88	129	>200	○
20	118	116	109	104	102	131	112	101
21	73	73	84	86	81	79	93	116
22	100	86	82	78	80	70	92	87
23	99	83	80	83	94	88	102	109
24	112	106	98	100	92	97	117	128
GGT								
17	41,1	36,6	36,6	43,3	93,9	184,4	231	245
18	66,6	52,2	51,1	55,5	71,1	202,2	○	○
19	38,8	33,3	37,7	28,8	53,3	86,6	209	○
20	51,1	47,7	32,2	34,4	35,5	33,3	31	54
21	31,1	46,6	31,1	31,1	33,3	37,7	45	36
22	72,2	42,2	52,2	58,8	51,1	52,2	62	56
23	33,3	30	34,4	38,8	45,5	50	50	49
24	38,8	34,4	33,3	32,2	32,2	58,8	182	271
BD								
17	0,17	0,04	0,13	0,13	0,13	0,04	0,13	0,04
18	0,39	0,04	0,04	0,04	0,08	2,92	○	○
19	0,13	0,04	0,04	0,08	0,13	0,08	2,13	○
20	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,13	0,04
21	0,21	0,08	0,04	0,04	0,04	0,08	0,04	0,04
22	0,3	0,21	0,04	0,08	0,08	0,04	0,04	0,04
23	0,04	0,04	0,04	0,04	0,08	0,17	0,08	0,08
24	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04

^AValores de referência por Kaneko et al. (1997).

○→ óbito