

## INTOXICAÇÃO CRÔNICA POR COBRE EM OVINOS MANTIDOS EM POMAR DE MACIEIRAS<sup>1</sup>

LUIZ A.O. RIBEIRO<sup>2,3</sup>, JOSÉ A. SIMÕES PIRES NETO<sup>2</sup>, NORMA C. RODRIGUES<sup>2</sup> e LUIZ C.B. FALLAVENA<sup>2</sup>

ABSTRACT.- Ribeiro L.A.O., Pires Neto J.A.S., Rodrigues N.C. & Fallavena L.C.B. 1995. [**Chronic copper poisoning in sheep grazed in an apple orchard.**] Intoxicação crônica por cobre em ovinos mantidos em pomar de macieiras. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 15(1):15-17. Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor, Caixa Postal 2076, Porto Alegre, RS 90001-970, Brazil.

Cases of chronic copper poisoning (CCP) were observed in a flock of 120 Ile de France ewes grazed on white clover (*Trifolium repens*) pasture in an apple orchard. The orchard was sprayed with copper sulphate 4 weeks after the ewes were introduced. A month later some ewes showed depression, jaundice and hemoglobinuria. Twenty one ewes died representing 17.5 % of the flock. The clinical signs, necropsy and microscopic findings were typical of CCP. The serum levels of aspartate aminotransferase (AST) in 11 ewes varied from 159 to 510 iu/l, and a sample from the pasture revealed 60 mg/kg of copper. High copper levels of 1313 and 300 mg/kg, respectively, were found in the liver and kidney collected from one of the two sheep on which post-mortem examination was performed. It is suggested that the poisoning was caused by the high level of copper in the pasture, together with the higher susceptibility of mutton sheep to copper poisoning.

INDEX TERMS: Sheep, copper poisoning.

SINOPSE.- Casos de intoxicação crônica por cobre foram observados em um grupo de 120 ovelhas da raça Ile de France que foram colocadas a pastorear em pomar de macieira, o qual foi aspergido com sulfato de cobre quatro semanas após a colocação dos animais. A pastagem predominante no pomar era de *Trifolium repens* (trevo branco). Um mês após a aspersão, apareceram ovinos com tristeza, andar cambaleante, icterícia e hemoglobinúria, dos quais 21 morreram, correspondendo a 17,5% do total do rebanho. Os sinais clínicos e as alterações macroscópicas e histológicas foram características da intoxicação crônica por cobre. A dosagem de Aspartato Amino Transferase (AST) no soro de 11 ovinos mostrou valores que variaram de 159 a 510 UI/l. A dosagem de cobre na amostra da pastagem revelou presença de 60 mg/kg e de 1313 e 300 mg/kg no fígado e rim respectivamente de um dos dois ovinos necropsiados. Conclui-se que a intoxicação ocorreu devido ao alto nível de cobre verificado na pastagem e sugere-se que a maior sensibilidade de ovinos tipo carne em absorver cobre tenha contribuído para a ocorrência do problema.

TERMOS DE INDEXAÇÃO; Ovinos, intoxicação por cobre.

### INTRODUÇÃO

Casos de intoxicação crônica por cobre (ICC) tem sido descritos no Rio Grande do Sul envolvendo, quase sem-

pre, ovinos submetidos a suplementação com concentrados. Níveis altos de cobre com valores entre 1000 e 2000 mg/kg foram demonstrados no fígado de ovinos que apresentavam ao exame clínico, sinais de icterícia e hemoglobinúria (Galvão & Williams 1966, Ribeiro et al. 1985, Riet-Correa et al. 1989). Dosagens de cobre feitas nas rações administradas a esses animais mostraram níveis que variavam de 15 a 65 mg/kg, quantidades essas suficientemente altas para matar ovinos com ingestão contínua das rações (Martin & Aitken 1991).

No presente trabalho são apresentados dados sobre casos de ICC ocorridos a campo no Rio Grande do Sul, em ovinos submetidos a pastoreio em pomar de macieiras e que não tiveram acesso a concentrados.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### Histórico clínico

A equipe de Patologia Animal do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor foi chamada para atender casos de morte de ovinos em uma propriedade no município de Cambará do Sul, RS. Um grupo de 120 ovelhas adultas da raça Ile de France foi colocado a pastorear em pomar de macieiras onde tinha sido implantado anteriormente trevo branco (*Trifolium repens*). O pomar foi aspergido com sulfato de cobre a 2%, usando trator turbinado com volume de calda de 1200 l/ha, um mês após a colocação dos ovinos. Quatro semanas após o pomar ter sido sulfatado (e dois meses após os ovinos terem sido introduzidos na pastagem), começaram a aparecer os sinais clínicos seguidos de morte em alguns animais.

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 4 de novembro de 1994.

<sup>2</sup> Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor, Caixa Postal 2076, Porto Alegre, RS 90001-970.

<sup>3</sup> Bolsista do CNPq (302061/81-9).

#### *Necropsia e colheita de material para exames histopatológicos*

Dois animais foram necropsiados a campo, quando foram colhidos fragmentos de fígado e rins para exame histopatológico. Esses materiais foram fixados em solução tamponada de formol a 10%, incluídos em parafina, cortados a uma espessura de 5 micrômetros e corados pela técnica de Hematoxilina/Eosina (HE) e pelo método de Uzman para cobre [ácido rubeânico] (Luna 1968).

#### *Exames laboratoriais*

Amostras de vários pontos da pastagem foram coletadas, reunidas em uma amostra única e submetidas à análise de cobre por espectrofotometria de absorção atômica no Laboratório de Nutrição Animal do Instituto de Pesquisas Zootécnicas Francisco Osório. Amostras de sangue de 11 ovinos foram coletadas, deixadas coagular à temperatura ambiente, sendo retirado o coágulo e preservado o soro em refrigeração a 4°C. As amostras de soro assim obtidas foram usadas para dosagem de Aspartato Aminotransferase (AST) usando reflotron Boehringer Mannheim. Fragmentos de fígado e rim de um ovino necropsiado foram submetidos à análise de cobre pelo método citado anteriormente para pastagem.

### RESULTADOS

#### *Dados clínicos coletados a campo*

Os sintomas clínicos observados a campo constavam de tristeza, andar cambaleante, icterícia intensa, urina escura e morte. Do total de 120 animais colocados no pomar, 21 morreram, correspondendo a 17,5% do rebanho.

#### *Achados de necropsia*

Os ovinos necropsiados mostraram carcaça icterica, fígado amarelado, rins aumentados de volume e hemorrágicos. A bexiga continha urina de cor escura achocolatada e na cavidade abdominal foi observado acúmulo de líquido sanguinolento.

#### *Exames histopatológicos*

O exame histopatológico revelou, no fígado, degeneração dos hepatócitos, alguns deles mostrando-se aumentados de tamanho com a presença de vacúolos no citoplasma, em alguns casos chegando a deslocar o núcleo para a periferia da célula. Mostrou, também, necrose hepática predominantemente na região periácinar, fibroplasia periportal com discreta proliferação dos ductos biliares, e pigmentos de coloração acastanhada no interior das células de Kupffer.

Os rins evidenciaram congestão, degeneração e necrose do epitélio tubular e a presença de inúmeros cilindros granulares de coloração vermelho-escura no interior dos túbulos renais.

A coloração pelo ácido rubeânico demonstrou a presença de grânulos positivos para cobre no interior das células de Kupffer e de hepatócitos necróticos.

#### *Dosagem de cobre*

A dosagem de cobre na amostra da pastagem coletada mostrou presença de 60 mg/kg (ms). A análise do fígado e rim mostrou, respectivamente, 1313 e 300 mg/kg (ms) desse elemento.

#### *Dosagem enzimática*

Os níveis de AST no soro dos 11 ovinos são mostrados no Quadro 1.

Quadro 1. Níveis de Aspartato Aminotransferase (AST) no soro de ovinos mantidos em pomar de macieira

Ovinos	AST (ui/l)
1	230
2	510
3	174
4	361
5	265
6	226
7	159
8	265
9	336
10	188
11	275
Média	274

### DISCUSSÃO

A ICC em ovinos no Rio Grande do Sul tem sido descrita principalmente em animais de cabanha submetidos a alimentação com concentrados (Galvão & Williams 1966, Ribeiro et al. 1985, Riet-Correa et al. 1989). Nesses casos, a intoxicação foi atribuída a presença de quantidades excessivas de cobre nas rações oferecidas aos animais (Ribeiro et al. 1985, Riet-Correa et al. 1989).

O presente trabalho registra a perda de 21 ovinos Ile de France criados em pomar de macieiras que não tiveram acesso a concentrados. Esses animais estavam submetidos a pastoreio em pastagem de trevo branco implantada entre os pés de macieira, cuja análise para cobre mostrou 60 mg/kg desse elemento. Blood & Radostits (1989) citam que pastagens contendo de 15 a 20 mg/kg de cobre podem causar intoxicação em ovinos, dependendo do nível de molibdênio. No presente trabalho não foi possível dosar molibdênio na amostra de pastagem coletada. Entretanto, Gaviolon & Quadros (1976), estudando níveis de molibdênio em pastagens da região, encontraram valores de 0,1 mg/kg, o que, segundo esses autores, estava nos valores limítrofes necessários para interferir com a absorção do cobre, cujo nível era normal na pastagem (5,3 mg/kg). O nível de cobre observado no presente trabalho foi pelo menos dez vezes superior aos níveis normais descritos para a região, e três vezes superior ao nível máximo de cobre tolerado por ovinos, conforme citado anteriormente.

Contaminações acidentais de pastagens por cobre têm sido referidas na literatura. Unwin (1980) alertou para o risco de adubações com fezes de pocilgas que continham até 675 mg/kg de cobre. Blood & Radostits (1989) mencionam contaminações de pastagens por corrosão de cabos elétricos, assim como emanações de indústrias. No caso

presente, não houve uso de adubo orgânico na pastagem e a propriedade situa-se em área não industrial. Assim sendo, sugere-se que a causa mais provável da contaminação da pastagem tenha sido a aspersão do pomar com sulfato de cobre, ocorrida um mês após a introdução dos ovinos.

Dois fatores adicionais podem ter agravado a situação. Primeiro, sabe-se que a absorção do cobre é obstaculizada pelo molibdênio, e que casos de ICC foram descritos na Austrália em Merinos pastoreados em *Trifolium subterraneum*, no qual os níveis de molibdênio eram baixos, enquanto que os de cobre eram normais (Underwood 1962). No Uruguai foi observada intoxicação crônica fitógena em ovinos criados em pastagens de *Trifolium repens* (trevo branco) e *Trifolium pratense* (trevo vermelho) (Pereira & Rivero 1993). No presente caso, a pastagem predominante era trevo branco, o qual poderia conter níveis baixos de molibdênio. Em segundo lugar, trabalhos recentes (Woolliams et al. 1982, Woolliams et al. 1983a, Woolliams et al. 1983b) mostraram a maior suscetibilidade de ovinos tipo carne à intoxicação pelo cobre, estando essa característica provavelmente relacionada com a maior capacidade genética desses animais em absorver o cobre.

Os sinais clínicos e os achados de necropsia observados são característicos de ICC já descritos por vários autores. As alterações histológicas observadas no fígado, decorrentes do armazenamento de cobre nos lisossomas celulares, são semelhantes àquelas descritas por Jolly & Hartley (1977). Jubb & Kennedy (1970) observaram que os grânulos de cobre são demonstrados histoquimicamente nas células de Kupffer e no epitélio dos túbulos renais. No presente caso, a coloração pelo ácido rubeânico demonstrou grânulos positivos para cobre somente no fígado, enquanto o rim mostrou alterações de nefrose similares às verificadas em outros casos de ICC (Ribeiro et al. 1985, Riet-Correa et al. 1989). Esses achados histopatológicos foram confirmados com os altos níveis de cobre evidenciados nas vísceras.

Foi possível ainda medir a AST no soro dos ovinos sobreviventes, verificando-se níveis altos dessa enzima. Riet-Correa et al. (1980) encontraram valores de AST entre 88 e 370 UI/l com valor médio de 176 UI/l. Os valores aqui observados foram mais elevados, variando entre 159 e 510 UI/l, superiores em mais de dez vezes os valores normais de TSA para a espécie. Os valores altos de AST podem ser tomados como uma indicação das alterações histológicas e histoquímicas do fígado durante a fase de acumulação do cobre, pois segundo Ross (1966) a concentração de TSA aumenta rapidamente durante um período de quatro semanas antes da morte do animal. Esse sugere que a dosagem dessa enzima poderia servir para identificar os animais em risco e iniciar o tratamento preventivo antes da crise hemolítica.

No caso aqui descrito, foi recomendado tratamento diário de todas as ovelhas sobreviventes com 100 mg de

molibdato de amônia e 1 g de sulfato de sódio, durante um período de 10 dias. O tratamento foi recomendado junto com a retirada das ovelhas do pomar, não ocorrendo nenhum caso de morte após tais recomendações.

Os dados sugerem que, no caso aqui descrito, a causa principal da intoxicação foi a ingestão continuada de pastagem com excesso de cobre. Tais casos não tem sido relatados no Rio Grande do Sul, onde a criação de ovelhas em pomares é relativamente recente. Assim, o presente trabalho serve como alerta para os riscos da introdução de ovinos em pomares, principalmente quando a aspersão com sulfato de cobre é usada como medida fitossanitária.

## REFERÊNCIAS

- Blood D.C. & Radostits O.M. 1989. Veterinary Medicine. 7th ed. Ballière Tindall, London, p. 1264-1268.
- Galvão A.S. & Williams B.M. 1966. Sobre casos de envenenamento crônico pelo cobre em ovinos. Bolm Inst. Pesq. Vet. Desidério Finamor, Porto Alegre, 3:41-44.
- Gavillon O. & Quadros A.T.F. 1976. O cobre, o molibdênio e o sulfato inorgânico em pastagens nativas do Rio Grande do Sul. Anu. Tec. IPZFO, Porto Alegre, 3:423-453.
- Jolly R.D. & Hartley, W.J. 1977. Storage diseases of domestic animals. Aust. Vet. J. 53:1-9.
- Jubb K.V.F. & Kennedy P.C. 1970. Pathology of Domestic Animals. 2nd ed. Academic Press, London, v. 1, p. 305-308.
- Luna L.G. 1968. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3th ed. Mc Graw-Hill, New York, p. 178.
- Martin W.B. & Aitken I.D. 1991. Diseases of Sheep. 2nd ed. Blackwell Scientific Publications, London, p. 320-321.
- Pereira D. & Rivero R. 1991. Intoxicação crônica fitógena por cobre, p. 299-307. In: Riet-Correa F., Méndez M.D.C. & Schild A.L. (ed.) Intoxicações por Plantas e Micotoxicoses em Animais Domésticos. Editorial Hemisfério Sul do Brasil, Pelotas.
- Ribeiro L.A.O., Rodrigues N.C. & Nardin N.S. 1985. Intoxicação crônica por cobre em ovinos no Rio Grande do Sul: histologia e toxicologia. Anais IX Congr. Est. Med. Veterinária, Santa Maria, RS, p. 71.
- Riet-Correa F., Oliveira J.A., Giesta S., Schild A.L. & Méndez M. C. 1989. Intoxicação crônica por cobre em ovinos no Rio Grande do Sul. Pesq. Vet. Bras. 9(3/4):51-54.
- Ross D.B. 1966. The diagnosis, prevention and treatment of chronic copper poisoning in housed lambs. Br. Vet. J. 122:279-284.
- Underwood E.J. 1962. Trace Elements in Human and Animal Nutrition. 2nd ed. Academic Press, London, p. 48-93.
- Unwin P.J. 1980. Copper in pig slurry: some effects and consequences of spreading on grassland, p. 306-319. In: Inorganic Pollution and Agriculture. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London.
- Woolliams J.A., Suttle N.F., Wiener G., Field A.C. & Woolliams C. 1982. The effect of breed of sire on the accumulation of copper in lambs, with particular reference to copper toxicity. Anim. Prod. 35:299-307.
- Woolliams J.A., Suttle N.F., Wiener G., Field A.C. & Woolliams C. 1983a. The long-term accumulation and depletion of copper in liver of different breeds of sheep fed diets of differing copper content. J. Agric. Sci., Camb., 100:441-449.
- Woolliams J.A., Wiener G., Suttle N.F. & Field A.C. 1983b. The copper content of wool in relation to breed and the concentrations of copper in the liver and plasma. J. Agric. Sci. 100:505-507.