

Artículos de Revisión y Reflexión

Considerações sobre intoxicação crônica por cobre em ovinos

Considerations about chronic copper intoxication in sheep

Hélio Martins de A. Neto, PhD¹; Moisés D. Freitas, PhD²; Irma X. Barbosa Sanchez, PhD³.

RESUMO

O cobre é um microelemento essencial para os mamíferos, porém, quando ingerido em grande quantidade, pode levar os animais a intoxicarem-se. Existe diferente susceptibilidade à intoxicação por cobre entre as espécies domésticas, e até mesmo entre raças dentro da própria espécie. Os ovinos são os mais propensos a desenvolverem a enfermidade, especialmente a de evolução crônica, o que causa grandes perdas econômicas. A maioria dos ovinos acometidos é proveniente de manejo intensivo, os quais recebem dietas ricas em concentrados energéticos, e a ocorrência mais comum se dá quando estes animais ingerem misturas minerais destinadas a bovinos. Entre os sinais clínicos destacam-se a icterícia e a hemoglobinúria. O diagnóstico é realizado por meio do histórico, exame clínico, alterações macro e microscópicas, além da determinação dos níveis cúpricos no fígado e/ou rins. A terapia pode ser eficiente se for instituída precocemente após o início da hemoglobinúria, sendo utilizado o tetratiomolibdato de amônio. O controle em rebanhos ovinos deve ser feito com rígidas medidas dietéticas, evitando-se oferecer rações concentradas em concomitância com sais minerais que contenham altos teores de cobre. Nas situações em que a dieta contenha elevados níveis de cobre, recomenda-se a adição de molibdênio à mesma.

Palavras chave: anemia hemolítica, enxofre, icterícia, hemoglobinúria.

Abstract

Copper is an essential trace element for mammals, however, when ingested in large quantities, can lead animals to intoxication. There is different susceptibility to copper poisoning among domestic species, and even between breed within species. The sheep are the most likely to develop the disease, especially a chronic disease, which causes great economic losses. Most affected sheep comes from intensive management, which receive diets rich in energy concentrated, and the most common occurrence is when these animals ingest mineral mixtures for cattle. Clinical features stand out jaundice and hemoglobinuria. Diagnosis is made through history, clinical examination, macro and microscopic changes, besides the determination of cupric levels in the liver and/or kidneys. The therapy may be effective if instituted early after the onset of hemoglobinuria, using the ammonium tetrathiomolybdate. The control in sheep herds should be done with strict dietary measures, avoiding offer concentrate rations concomitantly with mineral salts containing high level of copper. In cases where the diet contains high levels of copper, it is recommended that the addition of molybdenum to it.

Key words: Icterus hemolytic anemia, sulfur, jaundice, hemoglobinuria.

¹Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad del Tolima. ²Clínica de Ruminantes, Instituto Superior de Tecnología Aplicada – INTA, Sobral/CE/Brasil. ³Laboratório de Patologia Veterinária, Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad del Tolima

Recibido para publicación: Julio 28, 2014; Aceptado para publicación: Octubre 20, 2014.

Cómo citar este artículo: Martins, H. Considerações sobre intoxicação crônica por cobre em ovinos. Revista Colombiana de Ciencia Animal 2014, 7: 98-107

Autor de correspondencia: Doctor Hélio Martins, ¹Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad del Tolima. Correo electrónico: hmartinsan@ut.edu.co

Copyright © 2014 por Revista Colombiana de Ciencia Animal, Universidad del Tolima.

A ovinocultura é uma atividade explorada em todo mundo, estando presente nos mais variados ecossistemas, com diversos climas, tipos de solo e vegetação. Esta exploração é, na sua grande maioria, desenvolvida de forma extensiva e

com baixo nível de tecnologia, conseqüentemente com baixa expressão econômica (Leite, 2004).

A cadeia produtiva de ovinos e caprinos na Colômbia teve um crescimento considerável a partir do final dos anos 90, gerado principalmente pela mudança de atitude de veterinários e produtores sobre a utilidade destas espécies em benefício da pecuária do país e da abertura de novos mercados consumidores. Os pequenos ruminantes têm sido considerados como uma alternativa rentável às produções bovinas tradicionais, devido aos seus menores requerimentos de espaço e alimento e a

uma grande demanda de subprodutos lácteos por parte da Ásia e América do Norte, além da carne e derivados na América Central e América do Sul, onde especialmente na Colômbia, aumentou-se a popularidade do consumo de carne ovina, e o mercado deste produto tem-se mostrado promissor (Espinal *et al.*, 2006).

O cobre (Cu) é um elemento mineral essencial, necessário para o crescimento e a hematopoese. Desempenha também um papel importante como constituinte de algumas enzimas com funções oxidativas, como a tirosinase e a citocromo-oxidase, além da manutenção estrutural e funcional da célula nervosa e como componente da elastina das artérias aórticas (Kolb, 1972). Devido à importância que este elemento tem para o organismo, o mesmo é incorporado a rações comerciais destinadas à alimentação animal. (García-Rubio *et al.*, 2000).

Com o incremento da intensificação dos sistemas de produção de ovinos, a frequência de enfermidades como a intoxicação crônica por cobre (ICC) vem aumentando, acarretando desta forma, acentuadas perdas econômicas, já que a grande maioria dos animais acometidos é de alto potencial genético e a letalidade da doença é superior a 80% em ovinos não tratados (Ortolani, 1996).

O objetivo desta revisão é apresentar os principais aspectos da ICC em ovinos, devido à sua grande importância nas perdas econômicas e zootécnicas para a ovinocultura mundial.

O cobre: metabolismo, funções, exigências e fontes.

O cobre (Cu) é um micromineral essencial, que apresenta características de um metal de transição de valência básica e que aparece em pequenas quantidades no organismo dos animais. O Cu é encontrado em praticamente todos os tecidos, entretanto, sua maior concentração está no fígado, o qual tem a capacidade de acumulá-lo na forma da proteína ceruloplasmina (Barcellos e Ospina, 1998).

O Cu age como cofator de várias enzimas, tais como a cobre-zinco superóxido dismutase, citocromo C oxidase, ferroxidase I (ceruloplasmina), dopamina β-hidroxilase, tirosinase, dentre outras, sendo suas atividades deprimidas na carência desse mineral (Pinto *et al.*, 1995).

O Cu é absorvido em todo o trato gastrointestinal por transporte ativo através de sua ligação a

aminoácidos, formando metaloproteínas. Estas direcionam o metal do lúmen intestinal para a circulação sanguínea, onde o mesmo liga-se à albumina, forma disponível à maioria dos tecidos. Neste processo, o Cu também se liga, em uma pequena fração, à histidina. Em grandes concentrações, é absorvido principalmente no intestino por difusão simples (Bostwick, 1982; Barcellos e Ospina, 1998).

Quando ligado à albumina, grande parte do Cu é retida pelos hepatócitos. Nestas células, o microelemento é distribuído pela ceruloplasmina e em seguida é liberado no plasma fazendo parte de metaloenzimas e principalmente da proteína metalotioneína, que é armazenada nos lisossomos. O excesso de Cu é eliminado por via biliar, a qual é a principal via de excreção nos suínos, aves, roedores, cães e no homem (Keen e Granham, 1989; Pinto *et al.*, 1995).

Para que haja a excreção do Cu pela bile, o mesmo precisa estar ligado à metalotioneína produzida nos hepatócitos. Quanto menor a capacidade de ligação entre metalotioneína e o Cu, menor a capacidade de excreção do Cu hepático, predispondo o animal a intoxicação (Humphreys, 1988; Ortolani, 1996; Barcellos e Ospina, 1998).

Segundo Barcellos e Ospina (1998), 30 a 60% do Cu ingerido na dieta é absorvido, entretanto, apenas 5% é retido no organismo e o restante é excretado rapidamente pela bile. Logo, uma alta proporção do Cu ingerido está presente nas fezes, sendo a maior parte oriunda do Cu não absorvido. Apenas pequenas quantidades são excretadas na urina e no leite. Os animais jovens apresentam maiores níveis de absorção de Cu do que os adultos.

Conforme previamente descrito, o Cu é componente essencial de diversas enzimas e suas funções estão ligadas com a respiração celular, osteogênese, formação e estruturação do tecido conectivo, pigmentação e queratinização dos pêlos e da lã, integridade do tecido nervoso, resposta imunológica, atividade reprodutiva normal, desenvolvimento embrionário e metabolismo dos lipídeos (Martin, 1993; Barcellos e Ospina, 1998). As exigências nutricionais de Cu dos animais domésticos variam para cada espécie e estão descritas na tabela 1.

A biodisponibilidade do Cu está intimamente relacionada com a sua forma química e solubilidade.

O carbamato (CuCO_3) é a mais biodisponível no organismo, seguida pelo nitrato ($\text{Cu}[\text{NO}_3]_2$), sulfato (CuSO_4), cloreto (CuCl_2), óxido (CuO) e o Cu metálico, o qual é o de menor biodisponibilidade (Lassiter e Bell, 1960; Underwood, 1977; Martin, 1993).

As exigências diárias de Cu para o animal são diretamente dependentes das interações com outros componentes e microelementos presentes na dieta. As concentrações de molibdênio (Mo) e enxofre (S) influenciam diretamente na absorção do Cu. Em ovinos, uma relação Cu-Mo maior que 10:1 leva a acúmulo do excesso de cobre (Pugh, 2002; Villar *et al.*, 2002). Altos níveis dietéticos de zinco (Zn) e ferro (Fe) reduzem sua absorção e aumentam, por conseguinte, as exigências diárias (Martin, 1993; McDowell, 1997; Barcellos e Ospina, 1998; Ospina e Barcellos, 1998). A interação entre o Cu, Mo e o S tem grande importância na medicina veterinária de produção, pois estes elementos podem formar no rúmen um complexo triplo insolúvel, o tetratiomolibdato de Cu, provocando deficiência cúprica (Ospina e Barcellos, 1998).

Os cereais, grãos, frutos, legumes secos, mariscos, crustáceos, vísceras e os seus subprodutos são alimentos que possuem altos teores de Cu. Os cereais e grãos apresentam uma disponibilidade de Cu em torno de 9%. Nas forragens essa disponibilidade é baixa, em torno de 2%, e nos feno se eleva para 7% (Pinto *et al.*, 1995). Na tabela 2 é possível observar os níveis de Cu, Mo e S em alguns alimentos.

Intoxicação crônica por Cu em ovinos

Definição e Importância

Dentre as doenças metabólicas e nutricionais relacionadas com a intensificação da criação e produção de ovinos, a intoxicação cúprica merece destaque. O caráter silencioso da doença, com o acúmulo progressivo de Cu em animais aparentemente saudáveis, o súbito aparecimento dos sinais clínicos e a elevada letalidade causam enormes prejuízos econômicos (Pugh, 2002).

A intoxicação crônica por cobre nos ovinos é uma doença caracterizada por duas fases, uma subclínica, na qual o Cu se acumula no fígado durante vários meses, e uma fase aguda, que ocorre em consequência da liberação do Cu acumulado, causando hemólise intravascular com

hemoglobinúria, icterícia e podendo levar o animal à morte de um a seis dias (Riet-Correa *et al.*, 1989; Pilati *et al.*, 1990; Lemos *et al.*, 1997; Méndez, 2001).

Os ovinos são particularmente susceptíveis às intoxicações por cobre, e isto decorre da sua menor capacidade de excreção hepática deste elemento (Berqvist *et al.*, 1991). No ovino há uma menor ligação entre a metalotioneína e o Cu, predispondo esta espécie ao acúmulo do micromineral no fígado. Nestes animais, apenas 5% do Cu hepático está ligado a metalotioneína, enquanto no suíno e no homem, por exemplo, esta ligação é próxima dos 85%. Esta interação Cu-metalotioneína é importante para a excreção do Cu via bile (Humphreys *et al.*, 1988; Pinto *et al.*, 1995; Ortolani, 1996). Todas as raças ovinas são consideradas altamente susceptíveis à intoxicação por cobre, mas algumas delas são predispostas que outras, tais como a Suffolk, Texel e Ille de France (Ortolani, 1996; Angus, 2000), refletindo diferenças entre elas na eficiência da absorção intestinal do cobre, mais que diferenças na eficiência da excreção biliar (Stalker e Hayes, 2007).

Etiologia e Epidemiologia

As intoxicações agudas acontecem quando há ingestão acidental de grandes quantidades de Cu, superiores a 500 mg/kg. Tal situação pode ocorrer quando há ingestão de água oriunda de pedilúvio à base de sulfato de cobre (CuSO_4) ou após tratamento por via oral com excesso de sais solúveis de cobre quando da suspeita de deficiências, assim como utilização de preparações injetáveis (Uzal *et al.*, 1992; Radotits *et al.*, 2007; Scott, 2007).

Nos ovinos, porém, a maioria dos casos clínicos está ligada à ingestão de níveis não tão altos de Cu na dieta, superiores a 12 mg/kg, que se acumulam no organismo no decorrer de algumas semanas ou meses. A ICC é descrita como relacionada principalmente a três condições: primária, fitógena e hepatógena ou secundária (Gopinath *et al.*, 1974; Humphreys, 1988; Fernández, *et al.*, 1999; Santos *et al.*, 1999; Méndez, 2001; Costa *et al.*, 2004; Radotits *et al.*, 2007).

Sivertsen e Løvberg (2014) em estudo realizado na Noruega, observaram uma relação sazonal e individual no comportamento dos níveis de cobre hepático em ovelhas. Fatores que geram estresse nos animais são considerados como importantes na indução da doença clínica (Moeller, 2004) e a

sensibilidade aos referidos fatores pode variar, conforme já foi demonstrado em diferentes raças de ovinos, onde acredita-se que a tolerância à intoxicação não diz respeito somente a uma tendência a acumular Cu, mas também uma sensibilidade aos efeitos desta acumulação (Kumaratilake *et al.*, 1986; Haywood *et al.*, 2005). O acúmulo sazonal do cobre hepático, observada no estudo norueguês, foi atribuído aos diferentes níveis de estresse presentes em cada estação, às mudanças na relação Cu/Mo da dieta ao longo do ano, além da relativa transferência do Cu hepático das ovelhas gestantes para os cordeiros no útero e posteriormente, para a composição do colostro, conforme evidenciado por outros autores (Davis e Mertz, 1987; Gooneratne *et al.*, 1989).

A intoxicação primária está intimamente ligada à ingestão de altos níveis dietéticos de Cu, podendo ou não estar associada à deficiência de Mo e S. Existem diversas condições da dieta que podem levar a ingestão excessiva de Cu pelos ovinos, dentre as quais podemos citar os alimentos contaminados por fungicidas à base de Cu, ingestão de água oriunda de canos ou reservatórios feitos de Cu, pastagens adubadas com esterco de suínos ou aves, utilização de cama de frango, administrações profiláticas de Cu acima de 20 mg/kg de peso vivo como antihelmínticos, dentre outros (Bostwick, 1982; Ortolani, 1996; Méndez, 2001). Entretanto, o mais comum na intoxicação cumulativa por Cu, segundo Ortolani (1996), é a ingestão prolongada de rações concentradas, farelo de soja, farelo de amendoim, algodão, sorgo e outros grãos com altos níveis deste elemento e uma relação Cu:Mo:S desfavorável (baixos teores de Mo e S) (ver Tab. 2).

Por outro lado, Möllerke e Ribeiro (2005), acompanhando durante dois anos consecutivos, ovinos de diversas propriedades e raças, concluíram que provavelmente existem outros fatores, além exclusivamente dos elevados níveis de cobre no concentrado fornecido aos animais, que estão diretamente implicados no desencadeamento dos quadros de intoxicação crônica.

Maiorka *et al.* (1998) descreveram a ICC de ovinos após duas semanas de consumo de ração de coelhos com 15 mg/kg de Cu. Costa *et al.* (2004) relataram o uso prolongado de ração de bezerros causando também casos clínicos de ICC em ovinos.

Outro fator que também deve ser considerado como predisponente para a ICC em ovinos, é o

uso de sal mineral de bovinos (Miguel *et al.*, 2013), o qual possui boa palatabilidade e contém cerca de 1300 mg/kg Cu (Costa *et al.*, 2004), bem como a utilização de cama de frango, a qual apresenta elevada concentração deste elemento (Ortolani, 1996; Santos *et al.*, 1999).

Santos *et al.* (1999) descreveram casos de ICC em ovinos no Brasil, em animais submetidos a dietas a base de capim, palha de milho, cama de frango, concentrado próprio para vacas em lactação, sal mineral próprio para bovinos e farelo de soja. Houve uma letalidade superior a 80%, com praticamente 100% dos animais apresentando sinais clínicos de ICC.

Fernández *et al.* (1999) descreveram, na Espanha, a ICC em cordeiros submetidos a dietas a base principalmente de girassol. Dos 110 animais que foram submetidos a esta dieta, 35 apresentaram sinais clínicos de intoxicação e dentre estes, 24 vieram a óbito.

Na intoxicação fitógena, o Cu é ingerido em quantidades normais, entretanto o baixo teor de Mo nas pastagens favorece um acúmulo do microelemento no organismo dos animais. Esta situação é descrita na literatura principalmente em pastagens de trevo subterrâneo - *Trifolium subteraneum* (Pereira e Rivero, 1993; Radostitset *et al.*, 2007).

Méndez (2001) descreveu a ICC fitógena observada na primavera e no verão em ovelhas que foram manejadas no inverno em pastagens de *Trifolium vesiculosum* variedade *yachi*. Nestas pastagens foram determinados os níveis de Mo e Cu e esta relação Mo:Cu era de 0,5:28.

Ribeiro *et al.* (1995) descreveram, no Rio Grande do Sul, um caso de ICC em um rebanho de 120 ovinos que pastoreavam em um pomar de macieiras, o qual fora aspergido com sulfato de Cu a 2% um mês após a entrada dos animais nessa pastagem. Depois de quatro semanas deste manejo, foram observados os primeiros sinais de intoxicação. A pastagem predominante no pomar era de trevo branco (*Trifolium repens*).

Na intoxicação secundária ou hepatógena, os níveis de Cu dietéticos estão normais, entretanto o microelemento se acumula por consequência de lesões hepáticas causadas por plantas tóxicas que contêm alcaloides pirrolidínicos, como o *Senecio*

spp., *Encchium plantagineum*, *Heliotropum euporaicum*, *Crotalaria sp.*, bem como a fomopsina da Tremocilha (*Lupinus luteus*.) (Riet-Correa *et al.*, 1989; Pilati *et al.*, 1990).

Os fatores de risco relacionados à ICC estão diretamente ligados ao hospedeiro e às condições ambientais, como o consumo excessivo de Cu na dieta, contaminação da água e alimentos, desequilíbrio da relação Mo:S:Cu nas pastagens pobres em Mo, ou em animais que apresentem lesões hepáticas (Pinto *et al.*, 1995; Ortolani, 1996; Radostits *et al.*, 2007; Dirksen *et al.*, 2005; Di Paolo *et al.*, 2008).

Nos hospedeiros, existe uma diferença na susceptibilidade à ICC entre as espécies, raças (as raças ovinas mais susceptíveis são a Suffolk, Texel e Ille de France), idade (animais mais jovens, podem ser até quatro vezes mais susceptíveis que os adultos) e sexo (as fêmeas parecem ser mais propensas). Nos ovinos, os níveis de Cu na dieta estão muito próximos dos níveis que provocam toxicidade (Pinto *et al.*, 1995; Ortolani, 1996), conforme pode-se observar na tabela 3.

Patogenia

A patogenia da ICC divide-se em três fases: pré-hemolítica, hemolítica e pós-hemolítica. Durante a fase pré-hemolítica, na qual há acúmulo de Cu no fígado, os animais não apresentam quaisquer sinais clínicos, e esse período pode variar de semanas até alguns anos (Pinto *et al.*, 1995; Ortolani, 1996). Há acúmulo inicial de Cu nas células hepáticas periféricas aos vasos centrais e posteriormente nas demais regiões do fígado. Durante esse período de acúmulo nos hepatócitos, o número de lisossomos aumenta consideravelmente, pois esta organela também acumula o Cu na forma de metalotioneína (Ortolani, 1996).

O limiar máximo de acúmulo de Cu no fígado é variável, situando-se na maioria dos casos entre 1.400 a 1.500 mg/kg de matéria seca do órgão. Ao atingir este limiar, ocorre a morte celular difusa liberando quantidades excessivas de Cu e lisozimas com alto poder patogênico (Ortolani, 1996). A liberação do Cu hepático não é inteiramente compreendida. Atualmente, a hipótese mais aceita é a de que o acúmulo de íons de Cu no fígado cause o acréscimo de lisozimas eletrodensas nos hepatócitos e a eventual necrose dos mesmos (Radostits *et al.*, 2007).

Com a morte celular e a liberação do Cu para corrente sanguínea dá-se início à fase hemolítica. O Cu circulante penetra nos eritrócitos e oxida a glutatona, substância responsável pela integridade destas células. Há também a interação do Cu com os grupos sulfidrilas das proteínas na membrana eritrocitária, peroxidação lipídica de membrana e inibição de enzimas eritrocitárias como a dihidrolipoil desidrogenase, interferindo no metabolismo energético celular. Ocorre a oxidação de Fe⁺² da hemoglobina (Hb) em Fe⁺³, resultando na formação de metahemoglobina. Tais alterações bioquímicas dão origem aos quadros clínicos de depressão, anorexia, fraqueza, metahemoglobinemia, hemoglobinúria, anemia e icterícia, os quais são resultados da crise hemolítica intravascular aguda que pode levar o animal à morte em 24 a 48 horas (Humphreys, 1998; Pinto *et al.*, 1995; Ortolani, 1996; Méndez, 2001; Radostits *et al.*, 2007).

Tanto o Cu quanto a Hb e as lisozimas livres na circulação sanguínea, podem gerar graves lesões renais, levando o animal a um estado de uremia. Na fase pós-hemolítica é descrita a ocorrência de metahemoglobinemia e a presença de lesão degenerativa da substância branca no cérebro, como evolução de uma encefalopatia hepática (Maiorka *et al.*, 1998; Radostits *et al.*, 2007).

A morte pode vir em consequência das graves lesões hepáticas e renais e da anemia aguda (Ortolani, 1996). Radostits *et al.* (2007) afirmaram que o acúmulo de Cu no fígado é extremamente perigoso, pois não há sinais clínicos da doença até o aparecimento da crise hemolítica. Pinto *et al.* (1995) ressaltaram que fatores como o estresse por transporte, calor, fome, lactação bem como medidas errôneas de manejo, dentre outros fatores, podem contribuir para a precipitação do aparecimento da crise hemolítica.

Achados Clínicos

Radostits *et al.* (2007) descreveram que durante a fase pré-hemolítica os achados clínicos não são significativos, e que os animais apresentam-se aparentemente saudáveis. Entretanto, nas semanas que antecedem a crise hemolítica ocorre necrose hepática e, por conseguinte há a elevação das enzimas específicas deste órgão. A dosagem e a observação de elevados níveis da aspartato transaminase (AST) em alguns animais do rebanho, bem como o conhecimento da epidemiologia e a

maior susceptibilidade dos ovinos, pode auxiliar no controle e, desta forma, evitar o aparecimento de quadros clínicos da ICC (Mölleker e Bernhard, 2002).

Durante a fase hemolítica ocorre anorexia, apatia, sede, hemoglobinúria e icterícia, as quais aparecem de forma súbita (Radostits *et al.*, 2007). Ortolani (1996) afirmou que os quadros clínicos são variáveis, mas, a hemoglobinúria acentuada, icterícia, taquipneia e a coloração achocolatada dos vasos episclerais, chamam atenção.

Lemos *et al.* (1997) descreveram os achados clínicos como apatia e depressão, desidratação, icterícia, hipertermia, taquicardia, taquipneia, dispneia, secreção nasal do tipo serosa, hipotonia ruminal, fezes semi-líquidas e escuras e hemoglobinúria acentuada.

Santos *et al.* (1999) descreveram que os animais apresentavam-se apáticos, magros, com icterícia e urina escura. Com a evolução do quadro, a temperatura mantém-se subnormal, pode haver presença de opistótono, pêlos secos e eriçados, permanência em decúbito esternal e lateral, coma e morte em quase 100% dos animais.

Costa *et al.* (2004) descreveram que os sinais mais frequentemente observados em quinze ovinos atendidos na Clínica de Ruminantes - CDP - EMEV - da Universidade Federal da Bahia (UFBA) - Brasil, com diagnóstico de ICC foram a hemoglobinúria, icterícia, oligopneia ou taquipneia, taquicardia, hipertermia, podendo haver ainda, cegueira e opistótono.

Patologia Clínica

No período pré-hemolítico, seis a oito semanas antes da crise hemolítica, há o aumento das enzimas hepáticas específicas. Com níveis acima de 300 mg/kg de Cu na MS de fígado já existe um aumento significativo das enzimas AST, desidrogenase láctica e glutâmica, sorbitol desidrogenase e arginase. A ureia e bilirrubina também se apresentam aumentados (Pinto *et al.*, 1995; Mólleker e Bernhard, 2002; Méndez, 2001).

Além da dosagem das enzimas hepáticas, Radostits *et al.* (2007) afirmaram que a biopsia hepática para dosagem do Cu é uma técnica adequada ao diagnóstico precoce, uma vez que os níveis de Cu no sangue não se elevam muito até a crise hemolítica.

Estes mesmos autores indicaram que valores séricos normais de Cu giram em torno de 15,7 $\mu\text{mol/L}$ e que durante crise hemolítica estes níveis podem variar de 78 a 114 $\mu\text{mol/L}$, corroborando com os achados de Costa *et al.* (2004), onde a média dos valores séricos de animais atendidos na fase hemolítica da ICC foi de 97,7 $\mu\text{mol/L}$.

Durante a crise hemolítica ocorre uma queda brusca entre 4-10% do volume globular médio em até dois dias, podendo estar presente a metahemoglobinemia, devendo ser examinada a urina para a pesquisa de Hb (Humphreys, 1988; Ortolani, 1996). Humphreys (1988) descreveu também que os níveis do selênio e de vitamina E nos tecidos e na corrente sanguínea estão reduzidos.

Achados Anatomopatológicos

Macroscópicos:

Os animais intoxicados cronicamente por cobre apresentam um conjunto de lesões que indicam crise hemolítica intravascular. A pele, mucosas, tecido subcutâneo e serosas dos órgãos da cavidade abdominal estão ictericos ou, muitas vezes, com coloração castanha, porque parte da hemoglobina é oxidada a metahemoglobina. Os rins apresentam difusamente uma tonalidade vermelho-amarronzada a negra, além de marcante aumento da estriação cortical e medular. A urina é vermelho-escura, como resultado da hemoglobinúria, com oxidação a metahemoglobina e concomitante icterícia. O baço pode estar levemente aumentado de volume, escuro e friável. (Stalker e Hayes, 2007; Figuera e Graça, 2011; Miguel *et al.*, 2013).

O fígado com frequência está ligeiramente friável e edemaciado, com coloração laranja escuro, mas se a condição clínica decorre de lesão hepática a longo prazo, também é possível evidenciar fibrose e atrofia do órgão. Outras alterações como necrose, devido a distintas causas, incluindo hipóxia por anemia, falha cardíaca e choque, complicam o espectro de possíveis lesões hepáticas (Gooneratne, *et al.*, 1986; Lemos *et al.*, 1997; Maiorka *et al.*, 1998; Stalker e Hayes, 2007).

Microscópicos:

Quando da suspeita de intoxicação crônica por cobre, as amostras devem ser coradas pelas técnicas histoquímicas de Hematoxilina/Eosina (rotina) e de Ulzmann (ácido rubeânico), esta, específica para

deteção de cobre nos tecidos (Miguel *et al.*, 2013). As lesões histológicas localizam-se, principalmente, no fígado e nos rins (Méndez, 2001). No fígado, há necrose de coagulação centrolobular, necrose aleatória de hepatócitos, pseudoinclusões nucleares, acúmulo de pigmento biliar e variável quantidade de macrófagos repletos de pigmento castanho ao redor dos espaços-porta e entre os hepatócitos remanescentes (Figuera e Graça, 2011). Por meio da técnica de Ulzmann, é possível confirmar a presença de cobre no tecido hepático, a qual é caracterizada pelo acúmulo de material amorfo de coloração castanho-enechada no citoplasma de hepatócitos e das células de Kupffer (Möllerke e Ribeiro, 2005; Miguel *et al.*, 2013).

Nos rins há acentuada necrose tubular aguda multifocal com cilindros de hemoglobina, de coloração marrom-alaranjada, no interior dos túbulos contornados e coletores, com discretas a moderadas áreas de hemorragia (Carlton e McGavin, 1998; Jones *et al.*, 2000; Méndez, 2001; Castro *et al.*, 2007; Headley *et al.*, 2008; Figuera e Graça, 2011; Miguel *et al.*, 2013). No baço, é possível observar macrófagos exercendo eritrofagia (Figuera e Graça, 2011). As lesões histológicas do fígado e rins, respectivamente, resultam da deposição de cobre nos lisossomos hepáticos e da presença de hemoglobina nos túbulos renais, que os comprimem mecanicamente levando a hipóxia e consequente degeneração e necrose das células tubulares, estabelecendo quadro de nefrose hemoglobinúrica (Guedes *et al.*, 2003).

Diagnóstico

O quadro clínico, alterações macroscópicas e histológicas, juntamente com os dados epidemiológicos, permitem estabelecer a suspeita clínica ou diagnóstico presuntivo da intoxicação por cobre (Pinto *et al.*, 1995; Ortolani, 1996; Méndez, 2001; Radostits *et al.*, 2007).

A determinação dos níveis cúpricos no fígado (acima de 500 mg/kg) e/ou rins (acima de 26-61 mg/kg) é procedimento imprescindível e confirma o diagnóstico na fase hemolítica da doença, juntamente com as lesões histológicas hepáticas e renais (Angus, 2000; Radostits *et al.*, 2007).

Para um diagnóstico na fase pré-hemolítica, são sugestivos a epidemiologia, a susceptibilidade ovina, a ingestão excessiva de Cu na dieta e as altas concentrações das enzimas hepáticas. Para a

confirmação, faz-se uso da biopsia hepática, do lobo caudal, pois este apresenta a maior concentração do microelemento (Pinto *et al.*, 1995; Ortolani, 1996).

A análise dos alimentos é de extrema importância, incluindo pastagens e aguadas, para a determinação da causa da intoxicação, prevenindo desta forma, novos casos clínicos (Riet-Correa *et al.*, 1989; Ribeiro *et al.*, 1995; Fernández *et al.*, 1999).

É de fundamental importância considerar que apesar de o exame clínico indicar a suspeita da intoxicação, a conduta diagnóstica correta deve incluir além dos achados anatomopatológicos, a avaliação do tecido hepático com a coloração de Ulzmann, para a confirmação do acúmulo de cobre hepático, além da realização de dosagens de mineral no fígado e nos rins. Estas medidas são importantes para se fazer um adequado diagnóstico diferencial, tendo em vista que as alterações podem estar presentes em outras enfermidades que causem hemólise aguda, tais como a intoxicação por *Brachiaria* spp, intoxicação por chumbo, leptospirose, hemoglobinúria bacilar e eczema facial (tabela 4) (Ortolani, 1996; Radostits *et al.*, 2007; Miguel *et al.*, 2013).

Tratamento

O tratamento consiste na retirada imediata do alimento e é realizado com a administração oral de 100mg de molibdato de amônio e 1g de sulfato de sódio anidro, o qual reduzirá consideravelmente o nível tecidual de Cu por três dias. O modo de ação ocorre pela maior eliminação do mesmo nas fezes. Também, é indicada a administração intravenosa de tetratiomolibdato de amônio (de três a seis vezes), a cada dois a três dias, nas doses de 2,7 mg/kg de peso vivo (PV). A utilização do edetato de cálcio sódico na dose de 70mg/kg/PV também é eficaz, principalmente em bezerros (Ortolani, 1996; Radostits *et al.*, 2007).

Humphreys *et al.* (1988) descreveram o uso de tetratiomolibdato de amônio por via subcutânea na dose de 3,4mg/kg/PV em dias alternados. Esta via mostrou-se tão eficiente quanto a via intravenosa, sendo mais conveniente e não apresentando efeitos colaterais.

Ortolani (1996) corrobora a recomendação de Humphreys *et al.* (1988) e recomenda a administração de tetratiomolibdato de amônio, entretanto, realizando tratamento durante três dias consecutivos. Ambos os trabalhos descrevem que

a administração de tetratiomolibdato de amônio reduz os níveis hepáticos de Cu e também contribui para a diminuição da mortalidade durante a crise hemolítica nos animais tratados.

A administração de antioxidantes como selênio e vitamina E na dose de 500-1000 mg, por via intramuscular durante três a quatro dias, também é importante para auxiliar a redução dos radicais livres na corrente sanguínea e a recuperação dos animais com sinais clínicos de ICC (Méndez, 2001; Radostits *et al.*, 2007). Além disso, recomenda-se a realização de tratamento de suporte com fluidoterapia e/ou transfusão sanguínea (Radostits, *et al.*, 2007).

Controle e Profilaxia

O controle desta enfermidade deve ser realizado principalmente quando são utilizados ovinos de raças mais susceptíveis e em animais estabulados com dieta rica em concentrados/grãos durante longos períodos (Pinto *et al.*, 1995; Ortolani, 1996).

Os níveis de Cu na ração dos ovinos não podem exceder 10 mg/kg, sendo que a relação forragem/concentrado não deve ultrapassar 60:40. A utilização de suplementos minerais, de alto consumo não deve conter valores superiores a 800 mg/kg de Cu. Em rações que contenham níveis de Cu superiores a estes, recomenda-se a adição de Mo em concentrações de até 7,7 mg/kg (Ortolani, 1996; Méndez, 2001). Segundo Kimberling (1988) e Giral e Germain (1993), é de grande importância a adequação da relação Mo:Cu na dieta, que deve ser 1:6-10.

Quando a intoxicação por Cu é de origem fitógena, recomenda-se a fertilização das pastagens com 70g de Mo/ha ou a administração aos animais de blocos para lambedura contendo 76 kg de sal, 63 kg de gesso moído, 450g de Mo ou fosfato bicálcico, S e sulfato de Zn (Méndez, 2001).

Considerações Finais

O Cu é um microelemento essencial para a sobrevivência dos animais e tal fato deve ser levado em consideração na formulação da dieta oferecida aos ovinos. Portanto, apesar de ser potencialmente tóxico, o Cu não deve ter seu consumo restringido, mas deve-se adequar os níveis deste elemento na dieta, assegurando o aporte diário necessário para o metabolismo basal e ainda evitando o acúmulo do

mesmo no fígado.

A ICC é uma doença que se apresenta de forma silenciosa até a crise hemolítica, causando depressão, icterícia, hemoglobinúria e diarreia; podendo levar o animal a morte em poucos dias após o aparecimento dos sintomas. Este fato torna esta enfermidade de grande importância econômica na ovinocultura.

É fundamental considerar além dos achados clínicos, os dados epidemiológicos e alterações macro e microscópicas frequentemente presentes nos casos de intoxicação, porém, para se estabelecer um diagnóstico diferencial é crucial o emprego da coloração de Ulzmann e a dosagem de cobre por métodos analíticos nos tecidos dos animais suspeitos.

Em rebanhos com casos clínicos confirmados de ICC, é necessário identificar e retirar imediatamente a ração que causou a intoxicação e suplementar os animais com molibdato de amônio e sulfato de sódio, visando a redução do aparecimento de novos quadros clínicos.

O controle e profilaxia da ICC consistem na análise e adequação periódica dos níveis de Cu na dieta oferecida aos ovinos, que deve ser inferior a 10 mg/kg. Em animais estabulados com dietas ricas em concentrados o uso profilático do molibdato de amônio e sulfato de sódio na dieta animal são recomendados.

Referências

- Angus, K.W. Inorganic and organic poisons. In: Martin, W.B., Aitken, I.D., editors. Diseases of the sheep. Third Ed. Blackwell, Oxford, England, 2000. p.368-378.
- Barcellos, J.O.J., Ospina, P.H., 1998. Cobre. In: Nutrição Mineral em Ruminantes. Segunda Ed. Editora da UFRGS, Porto Alegre, Brasil.
- Bostwick, J.L., 1982. Copper toxicosis in sheep. Journal American of Veterinary Medicine and Association 180, 386-387.
- Berqvist, A., Parada, R., Palavecino, I. 1991. Ingestión crítica de metales pesados em diversas espécies animales. Agricultura Tecnica 4, 370-373.
- Carlton, W.W., McGavin, M.D., 1998. Patologia Especial de Thomson. Segunda Ed. ArtMed, Porto Alegre, Brasil, 672p.
- Castro M.B., Chardulo, L.A.L., Szabó, M.P.J., 2007. Copper toxicosis in sheep fed dairy cattle ration in São Paulo, Brasil. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 59, 246-249.

- Costa, J.N., Ferreira, A.F.M.S.C., Brito, J.M., Peixoto, A.P.C., 2004. Intoxicação por cobre em ovinos. In: Anais do XXXI CONBRAVET, Maranhão, Brasil, pp. 48-53.
- Davis, G.K., Mertz, W. Copper. In: Mertz, W, editor. Trace elements in human and animal nutrition. Fifth Ed. San Diego: Academic Press; 1987. p.301-364.
- Di Paolo, L.A., Ancinas, M.D., Travería, G.E., Romero, J.R. 2008. Crisis hemolítica aguda em ovinos, associada al consumo crónico de cobre: descripción de um caso. *Revista Veterinaria Argentina* 25, 251-257.
- Dirksen, G., Gründer, H., Stöber, M. 2005. *Medicina Interna y Cirugía del Bovino*, Volumen 1, Fourth Ed. Intermédica, Buenos Aires, Argentina, pp. 224-226.
- Espinal, C.F., Covalada, H.M., Amézquita, J.E., 2006. Diagnóstico de la cadena de ovinos y caprinos en Colombia. Documento de Trabajo No. 125. Observatório Agrocadenas Colombia. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Bogotá, Colombia.
- Fernández, A.J.G., Guzmán, M.M., Navas, I., MOJICA P.M., ROMERO, D., 1999. Sunflower meal as cause of chronic copper poisonig in lambs in southeastern Spain. *Canadian Veterinary Journal* 40, 799-801.
- Figuera, R.A., Graça, D.L. Sistema Hematopoiético. In: Santos, R.L., Alessi, A.C. editors. *Patologia Veterinária*. Roca, São Paulo, Brasil, 2011. p.419-420.
- García-Rubio, L., García-Arroyo, R., Míguez, M.P., Soler, F. 2000. Intoxicación por cobre en ovino: eficacia del tratamiento y evaluación del cobre en suero. In: *Comunicación 10, XXV Congreso de Patologia Animal*, Caceres, Espanha. pp. 377-380.
- Giral, B., Germain, H. 1993. Le cuivre. *Indispensable mais toxique*. Reussir-Patre, 406.
- Gooneratne, S.R., Buckley, W.T., Christensen, D.A. 1989. Review of copper deficiency and metabolism in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science* 69, 819-845.
- Gooneratne, S.R., Howell, J.McM., Aughey, E., 1986. An ultrastructural study of kidney of normal, copper poisoned and thiomolybdade - treated sheep. *Journal of Comparative Pathology* 96, 593-611.
- Gopinath, C., Hall, G.A., Howell, J.McM., 1974 The effect of chronic copper poisoning on the kidneys of sheep. *Research in Veterinary Science* 16, 57-69.
- Guedes, K.M.R., Moreira, M.A., Riet-Correa, F., Tabosa, I.M., Medeiros, R.M.T., Nobre, V.M.T. 2003. Intoxicação crônica por cobre em ovinos na região semi-árida. In: Anais do Simpósio Internacional Sobre Caprinos e Ovinos de Corte, João Pessoa, Brasil, p. 665.
- Haywood, S., Simpson, D.M., Ross, G., Beynon, R.J. 2005. The grater susceptibility of North Ronaldsay sheep compared with Cambridge sheep to copper-induced oxidative stress, mitochondrial damage and hepatic stellate cell activation. *Journal of Comparative Pathology* 133, 114-127.
- Headley, S.A., Reis, A.C.F., Nakagawa, T.L.D.R., Bracarense, A.P.F.R.L. 2008. Chronic copper poisoning in sheep from Northern Paraná, Brazil: case report. *Semina: Ciências Agrárias* 29, 179-184.
- Humphreys, D.J., 1998. *Veterinary Toxicology*, Third Ed. Great Britain by Butler & Tanner Ltd, London, England, 356p.
- Humphreys, D.J., Morrice, P.C.; Bremner I., 1988. A convenient method for the treatment of chronic cooper poisoning in sheep using subcutaneous ammonium tetrathiomolybdade. *The Veterinary Record* 9, 51-53.
- Jones, T.C., Hunt, R.D.; King, N.W., 2000. *Patologia Veterinária*, Sexta Ed. Manole, Barueri, Brasil. 1415p.
- Kimberling, C.V., 1988. *Jensen and swift's diseases of sheep*. Third Ed. Lea & Febiger: Philadelphia, USA.
- Keen, C.L., Graham, T.W., 1989. In: *Body's text book of pathology*, Lea and Febiger Philadelphia, London, pp. 146-147.
- Kolb, E., 1972. *Microfactores en nutrición animal*, Editorial Acribia, Zaragoza, Espanha, pp.214-218.
- Kumaratilake, J.S., Howell, J.McM., 1986. Histochemical study of the accumulation of copper in the liver of sheep. *Research in Veterinary Science* 42, 73-81.
- Lassiter, J.W.; Bell, M.C. 1960. Availability of cooper to sheep from Cu64 labelled inorganic compounds. *Jornal of Animal Science* 19, 754.
- Leite, E.R. 2004. Nordeste: questão de organização para o crescimento. http://www.accoba.com.br/ap_info_dc.asp?idCategoria=1&idInfo=348 (consultado em 03 de maio de 2014.)
- Lemos, R.A.A., Rangel, J.M.R., Osorio, A.L.A.R., Moraes, S.S., Nakasato, L., Salvador, S.C., Martins, S., 1997. Alterações clínicas patológicas e laboratoriais na intoxicação crônica por cobre em ovinos. *Ciência Rural* 27, 457-463.
- Maiorka, P.C., Mossoco, C.O., Almeida, S.D.B., Gorniak, S.L., Dagli, M.L.Z., 1998. Copper toxicosis in sheep: A case report. *Veterinary and Human Toxicology* 40, p.99-100.
- Martin, L.C.T., 1993. *Nutrição mineral de bovinos de corte*. Nobel, São Paulo, Brasil.
- McDowell, L.R., 1997. *Minerales para ruminantes en pastoreo en regiones tropicales*, Tercera Ed. Editora del Departamento de Ciencia Animal, Universidade de Florida, Estados Unidos. 92p.
- Méndez, M.D.C., 2001. Intoxicação crônica por cobre. In: *Doença de Ruminantes e Equinos - Volume II*, Segunda Ed., Valera, São Paulo, Brasil, pp.181-186.
- Miguel, M.P., Souza, M.A., Cunha, P.H.J., Costa, G.L., Abud, L.J., 2013. Intoxicação crônica por cobre em ovinos: conduta para o diagnóstico conclusivo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 65, 364-368.
- Moeller, R.B. 2004. Copper. In: Plumlee, K.H., editor. *Clinical Veterinary Toxicology*. Mosby, St. Louis, MS, pp.195-197.
- Möllerke, R.O., Bernhard, E.A., 2002. Valor da aspartato transaminase no diagnóstico precoce da intoxicação crônica por cobre. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária* 9, 110-113.
- Möllerke, R.O., Ribeiro, L.A.O. 2005. Aspectos epidemiológicos da intoxicação crônica por cobre em ovinos preparados para exposição. *Veterinária em Foco* 2, 183-192.
- Pereira, D., Rivero, R. Intoxicação crônica fitógena por cobre. In: Riet-Correa, F., Méndez, M.C., Schild, A.L., editores.

- Intoxicações por plantas e micotoxicoses em animais domésticos. Pelotas: Ed. Hemisferio Sur; 1993, p.93-113.
- Pilati, C., Barros, L., Giudice, J.C., Bodan, E., 1990. Intoxicação crônica por cobre em ovinos. *A Hora Veterinária* 9, 54.
- Pinto, C., Alves, A. Pires, M., Almeida, J., Azevedo, J., 1995. Intoxicação crônica pelo cobre - uma realidade a considerar na formulação alimentar. *Revista Portuguesa de Zootecnia* Ano II, 2.
- Pugh, D.G. 2002. *Sheep and Goat Medicine*. Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, United States, pp.100-101.
- Ortolani, E.L., 1996. Intoxicação e doenças metabólicas em ovinos: Intoxicação cúprica, urolitíase e toxemia da prenhez. In: *Nutrição de ovinos*. Editora da UNESP, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.
- Ospina, P.H.; Barcellos, J.O.J, 1998. O molibdênio e sua relação com a deficiência de cobre. In: *Nutrição Mineral em Ruminantes*. Segunda Ed. Editora da UFRGS, Porto Alegre, Brasil.
- Radostits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., 2007. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*, Tenth Ed. Saunders Elsevier, Philadelphia, United States, pp. 1821-1823.
- Ribeiro, L.A.O., Neto, J.A.S.P., Rodrigues, N.C., Fallavena, C.B., 1995. Intoxicação crônica por cobre em ovinos mantidos em pomar de macieiras. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 15, p.15-17.
- 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. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 9, p.51-54.
- Santos, N.V.M., Mota, R.A., Alencar, S.P., Soares, P.C., Pereira, M.F., Teixeira, M.N.; Melo, L.E.H., Albuquerque, C.A.F., Castro, F.J.C., 1999. Aspectos clínico-patológicos da intoxicação crônica por cobre em ovinos. In: *Anais do Congresso Pernambucano de Medicina Veterinária*, Recife, Brasil, pp. 153-154.
- Scott, P.R. 2007. *Sheep Medicine*. Manson Publishing Ltd., London, pp. 293-295.
- Sivertsen, T., Løvberg, K.E. 2014. Seasonal and individual variation in hepatic copper concentrations in a flock of Norwegian Dala sheep. *Small Ruminant Research* 116, 57-65.
- Stalker, M.J., Hayes, M.A. Liver and biliary system. In: Maxie, M.G. editor. *Pathology of Domestic Animals*. Fifth Ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, USA, 2007. p.379-381.
- Underwood, E.J., 1977. *Cooper. Trace Elements in human and animal nutrition*, Fourth Ed. Acad. Press, Nova Iorque, pp. 108.
- Uzal, F.A., Robles, C.A., Garro, J., Olaechea, F.V., Arrigo, J.L., Wolff, M. 1992. Intoxicación aguda por cobre em ovinos. *Veterinaria Argentina* 89, 599-603.
- Villar, D., Carson, T.L., Janke, B.H., Pallarés, F.J., Fernández, G., Kinker, J.A. 2002. Retrospective study of chronic copper poisoning in sheep. *Anales de Veterinaria de Murcia* 18, 53-60.