

## ALTERAÇÕES CLÍNICAS, PATOLÓGICAS E LABORATORIAIS NA INTOXICAÇÃO CRÔNICA POR COBRE EM OVINOS

### CLINICAL, PATHOLOGICAL AND LABORATORIAL CHANGES IN THE COPPER CHRONIC INTOXICATION IN SHEEP

Ricardo Antônio Amaral Lemos<sup>1</sup> Josephina Montanari Rosa Rangel<sup>2</sup> Ana Luiza Alves Rosa Osório<sup>3</sup>  
Sheila Silva Moraes<sup>4</sup> Luciano Nakazato<sup>5</sup> Sandro César Salvador<sup>5</sup> Sérgio Martins<sup>5</sup>

#### RESUMO

Com o objetivo de avaliar a toxicidade do cobre em ovinos, administrou-se sulfato de cobre a quatro grupos, nas dosagens de 15, 30, 60 e 120ppm, até surgirem os sinais de intoxicação; um quinto grupo permaneceu como controle. Estes animais foram submetidos a exames clínicos diários e a determinações periódicas dos níveis séricos de transaminase glutâmico oxalacética (AST) e gama-glutamiltransferase ( $\gamma$ GT). Aqueles que morreram durante o experimento foram necropsiados, sendo os fragmentos dos principais órgãos analisados histologicamente; adicionalmente foram determinados os níveis de cobre hepático. Em todos os grupos houve casos de intoxicação, os quais ocorreram entre 80 e 116 dias. Os principais sinais clínicos da intoxicação foram: depressão, icterícia, hemoglobinúria e diarreia. Elevações dos níveis de  $\gamma$ GT e AST foram observadas entre 21 e 43 dias antes do aparecimento dos sinais clínicos, atingindo valor máximo durante o quadro clínico. As principais alterações histológicas foram observadas no fígado e rins, revelando lesões degenerativas. Os valores de cobre hepático variaram entre 1097,5 e 1366,9ppm, evidenciando níveis iguais ou superiores a duas vezes o valor considerado como limite máximo normal, confirmando-se assim que este elemento foi responsável pelo quadro clínico patológico. Todas as dosagens usadas no experimento foram consideradas como potencialmente tóxicas para esta espécie animal.

**Palavras-chave:** intoxicação por cobre, ovinos, cobre.

#### SUMMARY

In order to evaluate the copper toxicity in sheep, 4 groups of animals have been administered Copper sulfate at the dosagens 15, 30, 60 and 120ppm, until signs of intoxication occurred. There was still a 5<sup>th</sup> group, as control. These animals have been submitted to daily physical examination and periodical determinations of AST and  $\gamma$ GT serum levels. Those that have died during the study have been necropsied and the fragments of the main organs have been histologically examined. The liver copper levels have also been determined. In all groups there have been cases of intoxication, which occurred between the 80<sup>th</sup> and 116<sup>th</sup> day. The principal clinical signs of intoxication were: depression, jaundice, haemoglobinuria and diarrhea. It has been observed raised levels of  $\gamma$ GT and AST between 21<sup>st</sup> and 43<sup>rd</sup> day before the clinical signs appeared, getting the maximum value during the clinical stage. The main histological changes were present in the liver and kidneys, showing degeneration lesions. Liver copper values varied from 1097.5 to 1366.9ppm, showing the same level or twice the value considered to be the maximum normal limit, assuring thus that this element has been responsible for the pathological clinical process. All the dosagens used in the study have been considered potentially toxic to this species.

**Key words:** copper poisoning, sheep, copper.

<sup>1</sup>Médico Veterinário, Mestre em Patologia Animal, Professor Assistente do Departamento de Medicina Veterinária (DMV) da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), Caixa Postal 649, 79070-900 - Campo Grande, MS. Autor para correspondência.

<sup>2</sup>Médico Veterinário, Mestre em Patologia Clínica, Professor Assistente do DMV, UFMS.

<sup>3</sup>Médico Veterinário, Mestre em Clínica Médica, Professor Assistente do DMV, UFMS.

<sup>4</sup>Médico Veterinário, Doutora, Pesquisadora do Centro Nacional de Pesquisa em Gado de Corte - EMBRAPA, Campo Grande, MS.

<sup>5</sup>Bolsista do Programa de Iniciação Científica da UFMS.

## INTRODUÇÃO

O cobre é um elemento tanto essencial quanto tóxico ao organismo animal. A toxicidade é variável entre os ruminantes, sendo o ovino a mais sensível das espécies (SOLI, 1980). Diversos casos de intoxicação espontânea por cobre tem sido diagnosticados no Brasil (RIET-CORREA *et al.*, 1989; PILATI, 1990; RIBEIRO *et al.*, 1995).

Os ovinos intoxicados por cobre podem apresentar dois quadros clínicos distintos. O primeiro caracteriza-se pela intoxicação aguda, na qual o animal apresenta uma severa gastroenterite logo após a uma alta ingestão de cobre. O segundo, denominado de intoxicação crônica, é o mais comum e caracteriza-se pelo acúmulo de cobre principalmente no fígado, sem manifestações de sinais clínicos; posteriormente, sob algum fator desconhecido, o cobre é liberado causando uma hemólise maciça, e que provocará icterícia e hemoglobinúria (SOLI, 1980, PILATI *et al.*, 1990).

O presente trabalho teve por objetivo caracterizar o quadro clínico patológico de ovinos submetidos a diferentes níveis de cobre considerados capazes de produzir intoxicação crônica nesta espécie animal.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento constou da administração de sulfato de cobre a quatro grupos de ovinos, previamente pesados e avaliados clínica e laboratorialmente. Tratavam-se de animais adultos criados à campo, não mineralizados e com variado grau de parasitose gastrointestinal. Após a vermifugação e pesagem ao início do experimento, quinze animais pesando entre 27 e 53kg, considerados em bom estado geral, foram introduzidos nos diferentes grupos, conforme o tratamento preconizado.

As dosagens de cobre foram calculadas em função do consumo diário individual de matéria seca, baseados em níveis de cobre considerados tóxicos para ovinos (SMITH, 1993) conforme os valores registrados na Tabela 1.

Paralelamente a avaliação clínica, houve acompanhamento, através de exames periódicos, dos níveis séricos de transaminase glutâmico oxalacética (AST) e gamaglutamiltransferase ( $\gamma$ GT), considerando os níveis fisiológicos de 260 a 350 UI e até 70 UI, respectivamente (BLOOD & RADOSTITS, 1989).

Todos os animais que morreram durante o experimento foram necropsiados. Fragmentos dos diferentes órgãos foram fixados em formol a 10% e

posteriormente processados histologicamente e corados pela hematoxilina e eosina. Nos animais que não evoluíram para a morte, realizou-se biópsia hepática, ao final do sétimo mês, segundo técnica descrita por SMITH (1993), sendo o material processado para exame histológico conforme o descrito acima.

Níveis hepáticos de cobre de quatro animais que morreram durante o experimento foram medidos por espectrofotometria de absorção atômica.

Tabela 1 - Dosagens de sulfato de cobre para os diferentes grupos de ovinos.

Identificação do animal N°	Grupo	Dose diária ppm	Dose administrada (g)
120	I	15	0,0816
161	I	15	0,0816
175	I	15	0,0840
95	II	30	0,1584
130	II	30	0,1584
166	II	30	0,144
167	III	60	0,3072
89	III	60	0,3072
171	III	60	0,2592
174	IV	120	0,570
83	IV	120	0,576
176	IV	120	0,538
126	V (controle)	----	-----
165	V (controle)	----	-----
173	V (controle)	----	-----

## RESULTADOS

Seis animais (ovinos 95, 167, 171, 83, 174 e 176) apresentaram sinais clínicos de intoxicação crônica por cobre com evolução fatal. Outro animal (ovino 175) manifestou quadro clínico da intoxicação, mas recuperou-se. Os principais dados referentes aos ovinos que apresentaram quadro clínico patológico de intoxicação crônica por cobre estão esquematizados nas Figuras 1, 2 e 3.

Todos os animais do grupo V (controle), dois animais do grupo I (ovino 120 e 161), dois animais do grupo II (ovino 130 e ovino 166) e um animal do grupo III (ovino 89) em nenhum momento apresentaram alterações clínicas dignas de nota ou elevações nos valores de AST e  $\gamma$ GT superiores aos limites considerados fisiológicos. Adicionalmente, nenhum destes animais apresentaram alterações histológicas significativas nos fragmentos de fígado coletados através de biópsia.

Nº do animal	Dias*	Sinais clínicos	Evolução
175	113	Apatia; icterícia; taquicardia; taquipnéia; hipertermia; secreção nasal do tipo serosa e hipotonia rumenal.	Em três dias houve normalização do quadro clínico.
95	116	Icterícia; taquicardia; taquipnéia; hipertermia e hipotonia rumenal.	Houve recuperação clínica em três dias; recidiva em 12 dias com agravamento dos sintomas anteriores além de fezes semilíquidas, escuras e fétidas.
167	84	Icterícia; taquicardia; taquipnéia; hipertermia e desdobraimento da segunda bulha.	Em 48h houve aparecimento de secreção nasal; a respiração tornou-se ruidosa e dispnéica, sobrevivendo a morte.
171	98	Depressão; mucosas pálidas; secreção nasal seromucosa; fezes semilíquida, escura e fétida.	Houve agravamento dos sinais, associados a icterícia, síndrome febril, sinais de desidratação, sobrevivendo a morte em 48h.
83	80	Revelou subitamente os sinais de grave intoxicação: depressão, icterícia, desidratação, síndrome febril, dispnéia estertores nasais.	Manteve-se em decúbito lateral e a morte ocorreu em 2h.
174	84	Grave depressão; fezes semilíquida; escura e fétida; icterícia; taquicardia e taquipnéia; normotermia; sopro cardíaco sistólico; secreção nasal; desidratação e hipotonia rumenal.	Foi tão grave a apresentação da intoxicação, que o animal permaneceu em decúbito após o exame, indo a óbito em menos de 24h.
176	97	Depressão; icterícia; desidratação; hemoglobi-núria acentuada; fezes semilíquidas e escuras; e secreção nasal em grande quantidade.	A morte ocorreu em aproximadamente 12h.

\* período compreendido desde o início do tratamento até o aparecimento dos primeiros sinais.

Figura 1 - Sinais e evolução clínica dos ovinos intoxicados por cobre.

## DISCUSSÃO

Nos animais que apresentaram sinais clínicos de intoxicação crônica primária por cobre, estes se manifestaram entre 90 (ovino 83) e 116 dias (ovino 95). Relatos anteriores mencionam intoxicação fatal após 112 e 140 dias, em cordeiros consumindo ração peletizada contendo 27 e 20ppm de cobre respectivamente (Tait, *et al.*, 1971 e Adamson *et al.*, 1969 citados por HUMPHREYS, 1988). Embora o surgimento dos sinais clínicos tenha sido mais tardio em animais dos grupos I e II, recebendo 30 (ovino 175) e 60ppm (ovino 95), um animal do grupo V, recebendo 120ppm (ovino 76) manifestou sinais clínicos após os dois ovinos do grupo III (ovino 167 e ovino 171) os quais recebiam 60ppm de cobre. Este dado pode ser explicado pela variação da dose considerada tóxica, (intoxicação crônica) para ovinos, entre 20 e 110mg de cobre por kg de peso vivo (BLOOD & RADOSTITS, 1989), bem como pela variação individual de susceptibilidade ao cobre. Isto torna-se evidente neste estudo, uma vez que um animal (ovino 89)

recebendo 60ppm de cobre, não apresentou sinais clínicos de intoxicação, enquanto que outro (ovino 95), recebendo metade desta dose, apresentou quadro clínico com evolução fatal. Da mesma forma observou-se variação de sensibilidade entre animais do mesmo grupo, sendo que, nos grupos I e II, apenas um animal de cada grupo (ovino 175 e ovino 95), apresentou sinais clínicos. Já no grupo III, um animal (ovino 89), não apresentou sinais clínicos nem alterações de transaminases hepáticas, enquanto que os outros dois animais (ovino 167 e ovino 171) adoeceram e morreram.

Quanto aos riscos de intoxicação, todos os níveis de cobre utilizados neste experimento devem ser considerados como tóxicos, uma vez que mesmo no grupo I, onde não foram registradas mortes, um animal (ovino 175), apresentou sinais clínicos e elevação nos níveis de  $\gamma$ GT. Níveis de 15ppm de cobre na matéria seca em concentrados são considerados limites de segurança, desde que outros fatores causando aumento de cobre no fígado estejam ausentes (Lamand, 1981 *apud* HUMPHREYS, 1988).

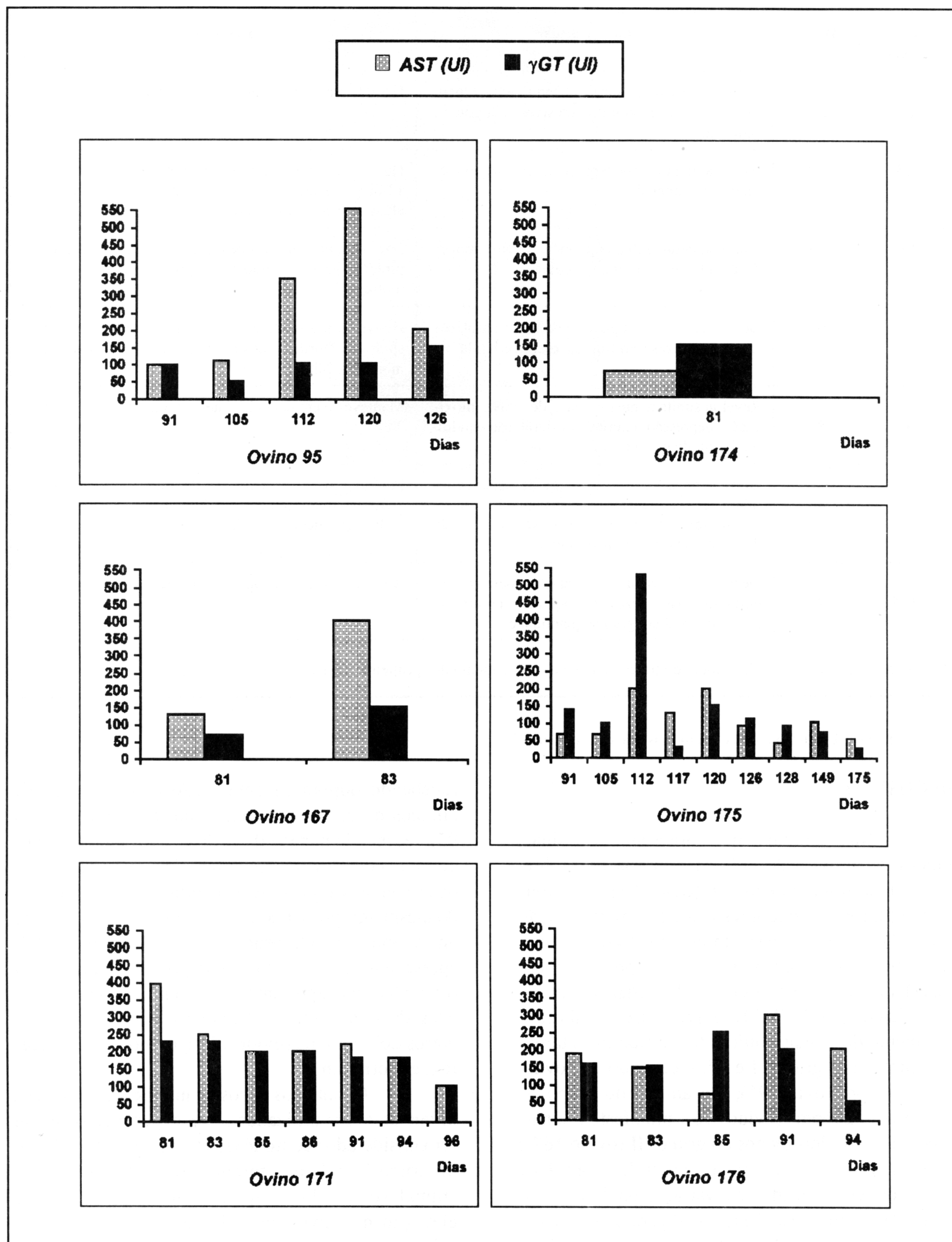


Figura 2 - Representação dos valores da transaminase glutâmico oxalacética (AST) e gamaglutamiltransferase ( $\gamma$ GT) em diferentes períodos da intoxicação.

Nº	Achados de necropsia	Cobre hepático ppm	Histopatologia		
			Fígado	Baço	Rins
95	Icterícia do tecido subcutâneo e mucosas; baço tumefeito; fígado pálido; rim de cor escura e urina avermelhada.	**	Tumefação difusa e necrose individual de hepatócitos; necrose centrolobular discreta.	Moderada congestão	Degeneração e necrose tubular; presença de hemácias, pigmento alaranjado e material eosinofílico.
167	Icterícia generalizada; pulmões congestos e edemaciados; fígado com bordos arredondados e evidenciação dos lóbulos; rins enegrecidos e urina escura.	1139,3	Desarranjo do parênquima; necrose centrolobular acentuada; discreta degeneração gordurosa; retenção biliar severa nos sinusóides e hepatócitos.	Acentuada congestão	Degeneração e necrose tubular moderada; túbulos com presença de material eosinofílico e pigmento alaranjado.
171	Desidratação extrema; fezes semi-pastosas no períneo; fígado com evidenciação do padrão lobular, rins aumentados de volume e de coloração normal; urina normal.	1366,9	Desarranjo do parênquima; presença de degeneração gordurosa; tumefação de hepatócitos com presença de vacúolos; degeneração centrolobular.	Severa congestão	Degeneração e necrose tubular difusa; túbulos com presença de material eosinofílico, pigmentos marron-acastanhado e cristais cilíndricos radiais refringentes.
83	Icterícia generalizada; desidratação intensa; pulmões congestos; fígado com evidenciação do padrão lobular; rins enegrecidos e urina escura.	1147,0	Degeneração gordurosa; degeneração e necrose centrolobular; leve fibrose peri-portal; retenção biliar intracanalicular e nos hepatócitos; necrose individual de hepatócitos.	Moderada congestão	Degeneração e necrose tubular severa.
174	Desidratação; mucosa ocular icterícia; pulmões congestos; fígado levemente amarelado; rins enegrecidos e urina escura.	**	Degeneração centrolobular moderada; hepatócitos aumentados e com vacúolos bem delimitados; necrose individual de hepatócitos.	Congestão leve	Degeneração e necrose tubular difusa; túbulos com presença de material eosinofílico no lúmen
176	Desidratação; icterícia generalizada; edema pulmonar; fígado com evidenciação do padrão lobular; rins enegrecidos e urina escura.	1097,5	Necrose centrolobular severa; retenção biliar nos ductos e canalículos; hepatócitos aumentados de volume e necrose individual.	Moderada congestão	Necrose tubular e degeneração moderada; túbulos com presença de material eosinofílico e pigmentos alaranjados.

\*\* dosagem não realizada.

Figura 3 - Achados de necropsia, dosagens de cobre hepático e alterações histológicas dos ovinos intoxicados por cobre.

Os níveis de cobre podem ser influenciados pela interação de componentes presentes na dieta, incluindo a quantidade de molibdênio, sulfatos e ainda lesão hepática prévia (BLOOD & RADOSTITS, 1989).

Os sinais clínicos observados conferem com aqueles descritos por RIET-CORREA *et al.*, (1989) e SMITH (1993), no que se refere a apatia, icterícia, hemoglobinúria e diarreia. Os demais sinais observados não estão referenciados na literatura, possivelmente por se tratarem na maioria de sinais secundários à extrema crise hemolítica. Sendo a taquicardia e taquipnéia resultado da estimulação simpática durante

a febre e ou compensatórias, em função do edema pulmonar ou choque hipovolêmico e toxêmico. A desidratação constatada na maioria dos animais foi decorrente da diarreia, da síndrome febril, e possivelmente pelo quadro depressivo que se encontravam deixando de procurar o bebedouro. A secreção nasal serosa ou seromucosa observada em todos os animais intoxicados, se justifica em função do edema pulmonar constatado nas necropsias realizadas nos animais que evoluíram para a morte. Exceto um animal, todos os demais que manifestaram os sinais clínicos e achados laboratoriais da intoxicação crônica pelo

microelemento, morreram. Relatos de BLOOD & RADOSTITS (1989), afirmam que a mortalidade dos animais intoxicados chega a 100%, tanto em casos agudos como crônicos.

Considerando os valores de referência de AST (260 a 350 U/I) BLOOD & RADOSTITS (1989), apenas três animais apresentaram níveis elevados da enzima (ovinos 171, 95 e 167), durante o quadro clínico ou imediatamente antes do aparecimento dos sinais. Tais elevações não se mostraram regulares ao ponto de se poder afirmar que podem ser usados como parâmetro para diagnóstico prévio da intoxicação, conforme o descrito por ROSS (1966). Esse autor menciona elevações dos níveis de AST até quatro semanas antes da morte do animal. Observou-se elevações dos níveis fisiológicos de  $\gamma$ GT (até 70 U/I) BLOOD & RADOSTITS (1989), aproximadamente entre duas semanas (ovinos 171 e 176) e três semanas (ovinos 175 e 95) antes do surgimento dos sinais e em todos os animais que apresentaram problemas, estes níveis mantiveram-se elevados durante praticamente todo o quadro clínico. Estes resultados sugerem que a  $\gamma$ GT é um melhor parâmetro para avaliação da lesão hepática.

Os achados de necropsia e histopatológicos observados nos ovinos n° 176, 83, 167, 95 e no ovino 174 caracterizados por icterícia e hemoglobinúria, são compatíveis com quadro hemolítico, estando portanto de acordo com descrições anteriores (HOWELL & GOPINATH, 1977; JUBB *et al.*, 1985; RIET-CORREA *et al.*, 1989; BARROS *et al.*, 1989; RIBEIRO *et al.*, 1995). Da mesma forma os valores hepáticos de cobre encontrados nos ovinos que foram a óbito, estão de acordo com trabalhos anteriores quando citam que níveis hepáticos de cobre superiores a 500ppm indicam ocorrência de intoxicação (POPE, 1971).

Os achados de necropsia são decorrentes da intensa hemólise após a liberação do cobre pelos lisossomos hepáticos (JUBB *et al.*, 1985). A capacidade do cobre em catalisar a reação de peroxidação de lipídios leva a ruptura das membranas dos lisossomos, necrose celular pela liberação das enzimas lisossômicas no citoplasma e conseqüente liberação do cobre para corrente circulatória (SLAUSON & COOPER, 1990). O cobre liberado induz hemólise e mais necrose hepatocelular causando um ciclo vicioso de crises hemolíticas e necrose hepática. O quadro clínico patológico desenvolve-se com hemólise, icterícia pré-hepática, hemoglobinúria, insuficiência hepática e renal (JUBB *et al.*, 1985). O ovino n° 171 não apresentou icterícia nem hemoglobinúria, entretanto apresentava fígado com padrão lobular evidenciado e os rins aumentados e acastanhados. A ausência de icterícia e

hemoglobinúria em ovinos intoxicados cronicamente por cobre foi anteriormente descrita (Lowe 1966 citado por GOPINATH *et al.*, 1974). Outros achados de necropsia como edema e/ou congestão pulmonar (observado nos ovinos, 83, 167, 174, 176) e aumento de volume do baço (ovino 95) também são descritos, embora não de maneira constante em ovinos com intoxicação crônica por cobre (BARROS *et al.*, 1989; PILATI *et al.*, 1990). As principais alterações histológicas foram observadas no fígado e rins, estando de acordo com os casos descritos (RIET-CORREA *et al.*, 1989; PILATI *et al.*, 1990; RIBEIRO *et al.* 1995). As lesões hepáticas devem-se a liberação do cobre pelos lisossomos conforme anteriormente explicado, e a distribuição na região centro lobular deve-se ao acúmulo do elemento em altas concentrações nos lisossomos dos hepatócitos desta região (KUMARATILAKE & HOWEL, 1987).

A severa hemólise e a conseqüente sobrecarga do epitélio tubular renal com hemoglobina, associada ao aumento da concentração renal do cobre contribuem para produzir nefrose aguda (GOPINATH *et al.*, 1974). Experimento realizado com coelhos demonstrou que somente a hemoglobina não foi capaz de causar lesão renal, mas quando associada a agente nefrotóxico em pequenas quantidades que não afetariam o rim, produziram severa lesão tubular (Lowe, 1966 *apud* GOPINATH *et al.*, 1974). A presença de cristais radiados e refringentes, observada no ovino 171, não foi descrita na literatura consultada.

## CONCLUSÕES

A intoxicação crônica pelo cobre se caracteriza clinicamente por depressão, icterícia, hemoglobinúria e diarreia;

A enzima  $\gamma$ GT manteve-se elevada durante o quadro clínico da intoxicação;

Os principais achados de necropsia são icterícia, hemoglobinúria, rins enegrecidos, fígado friável e aumentado de volume;

As principais alterações histológicas são observadas no fígado e rins, apresentando lesões degenerativas;

As determinações de cobre hepático nos animais com evolução fatal, confirmam que este elemento foi o responsável pelo quadro clínico patológico;

Os achados anatomopatológicos são importantes para o diagnóstico, mas não podem ser utilizados como critério único;

Observa-se variação individual de sensibilidade ao cobre.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARROS, C.S.L., METZDORF, L.L., SANTOS, M.N. *et al.* Intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* (compositae) em ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 9, n. 3/4, p. 55-67, 1989.
- BLOOD, D.C., RADOSTITS, O.M. *Veterinary Medicine*. 7<sup>th</sup> ed. London: Bailliere Tindal, 1989. 1502 p.
- GOPINATH, C., HALL, G.A., HOWELL, J. McC. The chronic copper poisoning on kidneys of sheep. *Research Veterinary Science*, v. 16, p. 57-69, 1974.
- HOWELL, J.M., GOPINATH, C. Copper toxicity in sheep: The effects of repeated intravenous injections of copper sulphate. *Research Veterinary Science*, v. 22, p. 86-94, 1977.
- HUMPHREYS, D.J. *Veterinary toxicology*. Third edition, London, 1988. 356 p.
- JUBB, K.V.F., KENNEDY, P.C., PALMER, N. *Pathology of domestic animals*. v. 2, 3<sup>rd</sup> edition, Academic Press, New York, 1985. 747 p.
- KUMARATILAKE, J.S., HOWELL, J.McC. Histochemical study of the accumulation of copper in the liver of sheep. *Research Veterinary Science*, v. 42, p. 73-81, 1987.
- PILLATI, C., LOMBARDO DE BARROS, S.C., GIUDICE, J.C. Intoxicação crônica por cobre em ovinos. *A Hora Veterinária*, ano 9, n. 5, p. 31-34, 1990.
- POPE, A.L. A review of recent mineral research with sheep. *Journal Animal Science*, v. 33, p. 1332-1343, 1971.
- RIBEIRO, L.A.O., NETO, J.A.S.P., RODRIGUES, N.C., *et al.* Intoxicação crônica por cobre em ovinos mantidos em pomar de macieiras. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 15, n. 1, p. 15-17, 1995.
- RIET-CORREA, F., OLIVEIRA, J.A., GIESTA, S. *et al.* Intoxicação crônica por cobre em ovinos no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 9, p. 51-54, 1989.
- ROSS, D.B. The diagnosis, prevention and treatment of chronic copper poisoning in housed lambs. *British Veterinary Journal*, v. 122, p. 279-284, 1966.
- SLAUSON, D.O., COOPER, B.J. Mechanisms of disease. *A textbook of comparative general pathology*, 1990. 541 p.
- SMITH, B.P. *Tratado de medicina interna de grandes animais: moléstias de eqüinos, bovinos, ovinos e caprinos* - São Paulo: Manole, 1993. 1738 p.
- SOLI, N.E. Chronic copper poisoning in sheep. *Nolway veterinary medicine*, v. 32, p. 75-89, 1980.

**Ciência Rural, v. 27, n. 3, 1997.**