

THALITA CARVALHO CARDOSO

**INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA POR NITRATO/NITRITO EM OVINOS E
CAPRINOS ALIMENTADOS COM AVEIA (*Avena sativa*) e AZEVÉM (*Lolium sp.*) E
REPRODUÇÃO EXPERIMENTAL EM OVINOS.**

Tese apresentada ao Programa de Pós -
Graduação em Ciência Animal da
Universidade do Estado de Santa Catarina –
UDESC, como requisito para a obtenção do
título de Doutor em Ciência Animal.

Orientador: Dr. Aldo Gava

**LAGES/SC
2017**

Carvalho Cardoso, Thalita

Intoxicação espontânea por nitrato/nitrito em ovinos e caprinos alimentados com aveia (*Avena sativa*) e azevém (*Lolium sp*) e reprodução experimental em ovinos. / Thalita Carvalho Cardoso. - Lages, 2017.

49 p.

Orientador: Aldo Gava

Tese (Doutorado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2017.

1. ovinos. 2. caprinos. 3. intoxicação. 4. aborto.
5. nitrato/nitrito. I. Gava, Aldo. II. Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela autora.

THALITA CARVALHO CARDOSO

INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA POR NITRATO/NITRITO EM OVINOS E
CAPRINOS ALIMENTADOS COM AVEIA (*Avena sativa*) e AZEVÊM (*Lolium*
sp.) E REPRODUÇÃO EXPERIMENTAL EM OVINOS.

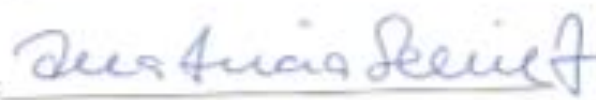
Tese apresentada no programa de pós-graduação em Ciência Animal da Universidade
do Estado de Santa Catarina – UDESC, como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor no Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal.

Banca Examinadora:

Orientador: 
Prof. Dr. Aldo Gava
Departamento de Medicina Veterinária- CAV/UDESC

Membro: 
Prof. Dra. Sônia D. Travenço
Departamento de Medicina Veterinária- CAV/UDESC

Membro: 
Prof. Dr. David Dreimeler
Departamento de Medicina Veterinária -UFRGS

Membro: 
Prof. Dra. Ana Lúcia Schild
Departamento Medicina Veterinária- UFPel

Membro: 
Prof. Dra. Joelma Lucieli
Departamento de Medicina Veterinária - FURB

LAGES, 24/02/2017

AGRADECIMENTOS

À minha família, minha mãe Luzia, meu pai Fernando e meu irmão Fernando, pessoas que sempre me apoiaram em todas as decisões e momentos.

Ao professor Aldo Gava, pela orientação.

A toda a equipe do Laboratório de Patologia Animal CAV/UDESC.

Aos professores Ederson Rodrigues Pereira e Everton Skoronski e a mestranda Darleila pelo auxílio nas análises de nitrato.

À Universidade do Estado de Santa Catarina, pelo apoio ao projeto e a FAPESC pela concessão de bolsa.

RESUMO

CARDOSO, T.C. **Intoxicação espontânea por nitrato/nitrito em ovinos e caprinos alimentados com aveia (*avena sativa*) e azevém (*Lolium sp.*) e reprodução experimental em ovinos** 2017. 49f. Tese (Doutorado em Ciência Animal - Área de Concentração: Sanidade e Patologia Animal) - Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Lages, 2017.

O uso excessivo de fertilizantes e/ou adubação orgânica associado a diversos fatores climáticos favorece o acúmulo de nitrato em gramíneas. O objetivo do presente trabalho foi avaliar os aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos da intoxicação por nitrato/nitrito em ovinos e caprinos mantidos em pastagens de aveia e azevém e reproduzir experimentalmente a enfermidade. Ovelhas e cabras prenhes em pastagem de azevém super adubado abortaram, e ou, pariram cordeiros e cabritos fracos, com anorexia e que morreram nos primeiros dias de vida. Em três propriedades ocorreram mortes em ovinos adultos sem observação de sinais clínicos. Experimentalmente, 10 ovelhas prenhes, duas vazias e quatro machos foram submetidos à alimentação com azevém coletado de áreas adubadas com dejetos de suíno e/ou uréia. Das ovelhas prenhes, sete pariram cordeiros normais. Uma ovelha pariu dois cordeiros, sendo que um morreu logo após o nascimento e outro nasceu fraco e; duas ovelhas pariram cordeiros com dificuldade de se alimentar e fracos, os quais com auxílio na amamentação recuperaram-se lentamente. Os sinais clínicos dos cordeiros oriundos das ovelhas em experimentação foram idênticos aos casos naturais. Os quatro machos, as duas ovelhas vazias e as sete ovelhas prenhes restantes não demonstraram sinais clínicos. A alteração microscópica observada, tanto dos casos naturais como experimentais, foi congestão e dilatação de vasos sanguíneos do sistema nervoso central. O teste da difenilamina resultou positivo em todas as propriedades em que ocorreram os surtos. A análise bromatológica realizada em amostras coletadas das propriedades para a reprodução experimental variou de 1,02 a 3,2% de nitrato na matéria seca. O consumo de aveia e azevém, com excesso de adubação nitrogenada, pode ser responsabilizado por produzir nascimento de cordeiros e cabritos fracos ou natimortos e sinais clínicos agudos de insuficiência respiratória e morte em ovinos adultos.

Palavras chaves: ovino, caprino, intoxicação, aborto e nitrato/nitrito.

ABSTRACT

CARDOSO, T.C. **Spontaneous nitrate/nitrite poisoning in sheep and goats fed oats (*Avena sativa*) and ryegrass (*Lolium* sp.) and experimental reproduction in sheep.** 2017. 49s. Thesis (Doctorate Degree in Animal Science - Area of Concentration: Animal Health and Pathology) - University of Santa Catarina State. Graduate Program in Animal Science, Lages, 2017.

The excessive use of fertilizers and/or organic fertilization along with several climatic factors augments nitrate accumulation. The objective of the present study was to evaluate the epidemiological, clinical and pathological aspects of nitrate / nitrite intoxication in sheep and goats kept in oat and ryegrass pastures and to experimentally reproduce the disease. Ewes and pregnant goats that are fed super fertilized ryegrass either aborted or bore weak lambs and goats with anorexia, who died in the first days. Three deaths occurred in adult sheep without any clinical signs. Experimentally, 10 pregnant ewes, four males and two empty sheep were fed ryegrass cultivated in areas fertilized with swine and/or urea waste. Of these, seven gave birth to normal lambs. One sheep gave birth to two lambs; one died shortly after birth and the other lamb was born weak. Two lambs gave birth to weak lambs with difficulty feeding on their own. However, with the aid of breastfeeding, these lambs slowly recovered. The clinical signs of the lambs from the experimental sheep were identical to the natural sheep. Four males and two empty sheep, and the seven pregnant sheep showed no clinical signs. Both in the natural and experimental cases, we observed congestion and dilation of blood vessels of the central nervous system. The diphenylamine test was positive in all properties where the outbreaks occurred. The bromatological analysis performed on samples collected from the properties for experimental reproduction ranged from 1.02 to 3.2% of nitrate in the dry matter. The consumption of oats and ryegrass with excessive use of fertilizers can be responsible for the birth of weak lambs and goats, or stillbirths and acute signals of respiratory insufficiency followed by death in adult sheep.

Key words: ovine, goat, intoxication, abortion and nitrate / nitrite.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Azevém utilizado na reprodução experimental. A- Setor de Bovinocultura - CAV - UDESC. B- Setor de Patologia Animal - CAV- UDESC.	30
Figura 2- Análise do nitrato. A - extração do nitrato da planta no agitador elétrico. B - coloração rósea após 15 minutos. C - leitura da concentração de nitrato no aparelho Spectroquant pharo 300®.	32
Figura 3 - Intoxicação por nitrato/nitrito em ovino. Congestão e dilatação dos vasos sanguíneos do sistema nervoso central. Coloração HE. Obj 20x.	35
Figura 4 - Intoxicação por nitrato/nitrito em ovinos. Cordeiro fraco e com dificuldade em se manter em estação.	36
Figura 5 - Intoxicação por nitrato/nitrito em cordeiro natimorto. Coloração vermelha do sistema nervoso central.	37
Figura 6 - A – Teste da difenilamina. Obtenção do extrato vegetal. B - Adição da difenilamina. C – Reação azul, indicativa da presença de nitrato.	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ovinos utilizados no experimento, sexo, origem da pastagem e período de ingestão	31
Tabela 2 - Resultados das intoxicações espontâneas por nitrato/nitrito. Pastagem utilizada, cultivo anterior e adubação, número total de animais, total de animais mortos e teste da difenilamina.	34
Tabela 3 - Reprodução experimental da intoxicação por nitrato/nitrito. Pastagem utilizada, adubação, número total de animais, número de animais doentes e mortos e % de nitrato na matéria seca.	36

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.2 AVEIA E AZEVÉM.....	19
2.3 INTOXICAÇÃO POR NITRATO EM OVINOS E CAPRINOS.....	20
2.3.1 Epidemiologia.....	20
2.3.2 Patogênese	21
2.3.3 Sinais clínicos e lesões	22
2.4 ESPÉCIES SUSCEPTÍVEIS A INTOXICAÇÃO POR NITRATO/NITRITO.....	23
2.5 TRATAMENTO.....	24
2.6 TESTE DA DIFENILAMINA	25
3 OBJETIVOS	27
3.1 GERAL.....	27
3.2 ESPECÍFICOS	27
4 MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1 DOENÇA ESPONTÂNEA	29
4.2 REPRODUÇÃO EXPERIMENTAL	29
4.2.1 Ovinos experimentais	29
4.2.2 Locais de colheita da planta	30
4.2.3 Análise de nitrato e teste da difenilamina.....	31
5 RESULTADOS	33
5.1 DOENÇA ESPONTÂNEA	33
5.1.1 Histórico e quadro clínico e patológico.....	33
5.2 REPRODUÇÃO EXPERIMENTAL	35
5.2.1 Lesões macroscópicas e histológicas.....	37
5.2.2 Análise de nitrato e teste da difenilamina.....	37

6 DISCUSSÃO	39
7 CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS	45

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas houve um expressivo aumento das pastagens cultivadas no estado de Santa Catarina para utilização na alimentação de ruminantes. Diante disso, há preocupação com a melhoria da fertilidade do solo e o fornecimento de nutrientes adequados para a planta, em particular o nitrogênio. Nem sempre o solo é capaz de fornecer às plantas todos os nutrientes necessários para o seu desenvolvimento, sendo a adubação química ou orgânica essencial para a agricultura. Quando utilizado em excesso, o nitrogênio favorece a deposição de nitrato nas folhas das plantas e, como consequência, alterações clínicas e morte em animais.

A intoxicação por nitrato/nitrito pode ocorrer em qualquer espécie. No estado de Santa Catarina essa enfermidade é observada com frequência em bovinos sob pastagem de aveia (*Avena sativa*) e azevém (*Lolium spp.*) e é responsável por alto número de mortes nessa espécie (JONCK et al., 2013). Recentemente foram acompanhados dois surtos de natimortos ou o nascimento de cordeiros e cabritos fracos, sem força para se alimentar e três surtos de intoxicação por nitrato em ovinos. Em todos os surtos os ovinos e caprinos pastoreavam em pastagem de aveia e azevém com crescimento vigoroso. No Brasil não há citações sobre abortos e natimortos em ovinos e caprinos decorrentes da ingestão de pastagens ricas em nitrato. Também não há citações da ocorrência de morte em ovinos adultos mantidos em pastagens de aveia e/ou azevém ricas em nitrato.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos da intoxicação por nitrato/nitrito em ovinos e caprinos mantidos em pastagens de aveia e azevém e reproduzir experimentalmente a enfermidade.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 TECNIFICAÇÃO DA AGRICULTURA

O desenvolvimento de tecnologias agrícolas com o objetivo de aumentar a produção de alimentos para animais de produção contribuiu para o surgimento de enfermidades de origem alimentar. Visando o crescimento de culturas melhoradas para alta produtividade, é comum o uso de adubação mineral com altas doses de sais de NH_4^+ (amônio) e NO_3^- (nitrato) (KERBAUY, 2012). Nos últimos anos, o consumo de pastagens cultivadas e de rápido crescimento, em áreas com adubação química e/ou orgânica excessivas, tem produzido morte em bovinos (JONCK et al., 2013).

2.2 AVEIA E AZEVÉM

No sul do Brasil, durante o inverno ocorre um déficit forrageiro que compromete o desenvolvimento dos animais. As pastagens de inverno mais utilizadas são a aveia e azevém, devido à elevada produção de matéria seca, adaptabilidade ao clima frio e alta capacidade de resposta à adubação nitrogenada. (ALVIM, 1990). Existem três espécies principais de aveia: *Avena sativa*, *Avena byzantina* e *Avena strigosa* ou aveia preta, aveia amarela e aveia branca, respectivamente. A aveia não é exigente em relação ao solo, consegue produzir razoavelmente em solos fracos e não tolera solos úmidos. O clima ideal e comumente cultivado é o temperado. A semeadura pode ser iniciada entre março e julho (MORAES, 1995).

As espécies de azevém são *Lolium multiflorum* e *Lolium perene*. A época de semeadura ocorre entre os meses de março e abril e produz bem em solos de várias qualidades, sendo o argilo-arenoso e o arenoso-argiloso os mais indicados (MORAES, 1995). O uso das forrageiras de inverno possui como vantagem o aproveitamento de áreas durante a entressafra e redução no uso de concentrado (ALVIM, 1990).

2.3 INTOXICAÇÃO POR NITRATO EM OVINOS E CAPRINOS

A intoxicação por nitrato/nitrito em ovinos é descrita na Austrália (FAIRNIE, 1969; MCKENZIE et al., 2004) e Inglaterra (GUMBRELL, 1990) e em caprinos na Índia (PAL et al., 1997). No Brasil há relatos de intoxicação por nitrato/nitrito somente na espécie bovina, por *Echinochloa polystachya* (capim-mandante) e *Pennisetum purpureum* (capim-elefante) no sertão da Paraíba (MEDEIROS et al., 2003) e *Avena sativa* (aveia) e *Lolium sp* (azevém) em Santa Catarina (JONCK et al., 2013).

2.3.1 Epidemiologia

A intoxicação por nitrato/nitrito em ruminantes ocorre quando os animais ingerem plantas (JONCK et al., 2013; MCGRATH, LIEVAART e FRIEND, 2013), água (CAMPBELL et al., 1961; MCPARLAND et al., 1979) ou feno (DAVIDSON, DOUGHTY, BOLTON, 1941) com altos níveis desse composto. Diversas plantas são conhecidas por conter concentrações elevadas de nitrato, entre elas a beterraba (*Beta vulgaris*) (RADOSTITS et al., 2000), o sorgo (*Sorghum sp.*) (CARRIGAN e GARDNER, 1982; NAGARAJAN et al., 2015), aveia (*Avena sativa*) e azevém (*Lolium sp.*) (JONCK et al., 2013) e *Pennisetum clandestinum* (BOURKE, 2007). Em ovinos são descritas intoxicações por *Amaranthus retroflexus*, *Avena sp.* (DAVISON, MCENTEE, WRIGHT, 1965) e *Dactyloctenium radicans* (MCKENZIE et al., 2004) e em caprinos por *Salvia coccinea* (PAL et al., 1997).

O princípio tóxico existente nas plantas é o nitrato de potássio (RADOSTITS et al., 2000). Um dos principais fatores determinantes para presença de níveis tóxicos de nitrato nas plantas é a ocorrência de dias chuvosos após um prolongado tempo de seca (PICKRELL, OEHME e HICKMAN, 1991; BINTA e MUSHI, 2012; MEDEIROS et al., 2003) e o uso de fertilizantes (DAVIDSON, DOUGHTY e BOLTON, 1941).

O nitrogênio encontrado no solo é decomposto por bactérias e fungos pelo processo de amonificação, formando o NH_4^+ (amônio), que é oxidado por bactérias nitrificantes (nitrificação) resultando no nitrito (NO_2^-). As bactérias desnitrificantes o oxidam e formam o nitrato. Essa é a forma que quase todo o nitrogênio se move do solo para o interior das raízes (TAIZ e ZEIGER, 2013) e é incorporado normalmente nos tecidos como aminoácidos, proteínas e outros compostos nitrogenados. O local primário para conversão do nitrato nesses produtos são as folhas verdes em crescimento (OZMEN, 2003).

Durante períodos de condições desfavoráveis, principalmente a seca, as plantas acumulam o nitrato nas raízes devido a pouca utilização no metabolismo celular. Após as primeiras chuvas, o rápido crescimento resulta na absorção de grande quantidade de nitrato (BINTA e MUSHI, 2012).

2.3.2 Patogênese

Em ruminantes, o mecanismo pelo qual os animais se intoxicam após ingerir grandes quantidades de nitrato, é a redução do nitrato em nitrito no rúmen. O nitrito oxida a molécula heme, transformando Fe^{+2} (ferroso) em Fe^{+3} (férrico), que não carrega oxigênio (LEWIS, 1951; DIVEN, REED e PISTOR, 1964). Diversos fatores estão envolvidos para que os níveis de nitrato/nitrito se tornem tóxicos, incluindo a adaptação da flora ruminal, dieta do animal, concentração de nitrato ingerida, espécie animal (CHENG e PHILLIPPE, 1988), ingestão rápida de plantas com alto teor de nitrato, animais com escassez de alimento e animais suplementados com monensina (MALONE, 1978; ROGERS, HOPE e CAWDERY, 1980). Embora as intoxicações estejam relacionadas ao nitrato, a metemoglobinemia ocorre devido a formação do nitrito no rúmen, sendo esse o componente tóxico. A intoxicação específica por nitrato possui a característica de ser irritante ao trato gastrointestinal, por ter ação direta na mucosa do trato alimentar (RADOSTITS et al., 2000).

Nos herbívoros, o nitrato (NO_3^-) é reduzido via nitrito (NO_2^-) a amônia. No processo de degradação do nitrato, *in vitro*, a bactéria *Megasphaera elsdenii* parece estar associada ao aumento da quantidade de amônia simultaneamente à redução de nitrito. Outras bactérias dos gêneros *Selenomas*, *Veillonella*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Coprococcus*, *Lactobacillus* e *Peptostreptococcus* também demonstraram a capacidade de metabolizar o nitrito. O nitrito em excesso é rapidamente absorvido na corrente sanguínea, formando a metemoglobina (WANG et al, 1961).

A metemoglobina é um óxido de hemoglobina, no qual o íon ferroso é convertido em íon férrico, resultando na coloração marrom - avermelhada do sangue (ZACHARY e MCGAVIN, 2013). A enzima metemoglobina redutase, que está presente nos eritrócitos para reduzir as pequenas quantidades normais de metemoglobina em hemoglobina é inadequada na presença de oxidação excessiva, resultando em anóxia (KLEIN, 2014)

Em experimento realizado com ovelhas os valores de metemoglobina que resultaram em morte foram de 87,3% a 92,7 %, enquanto que níveis de 77 % de metemoglobina reproduziram sinais clínicos sem resultar em morte. Ovinos que receberam doses fracionadas

via intraperitoneal, de nitrito de potássio demonstraram ser mais tolerantes à formação de metemoglobina do que ovinos que receberam altas doses em doses únicas (DIVEN, REED e PISTOR, 1964). Níveis letais para bovinos são de 9 g por 100 mL de sangue e em suínos as mortes ocorrem quando o nível de metemoglobina atinge entre 76% e 88% (RADOSTITS et al., 2000).

2.3.3 Sinais clínicos e lesões

Os principais sinais clínicos observados em ovinos foram aborto e nascimento de cordeiros com má formação. A maioria das ovelhas que pariram cordeiros com má formação, foram expostas a altas quantidades de nitrato estavam na fase inicial da gestação, enquanto que, ovelhas na fase final da gestação expostas a pastagem com alto nível de nitrato abortaram, porém, os abortos também ocorreram em diferentes períodos gestacionais. A morte de 20% de ovelhas, em um surto, também é relatada, mas não há informação sobre os sinais clínicos (GUMBRELL, 1990). Experimentalmente, ovinos intoxicados por nitrato de potássio, manifestaram dificuldade respiratória, inclinando o focinho para o alto com rápidos reflexos da língua, dificuldade em se manter em estação e decúbito (DIVEN, REED e PISTOR, 1964), aborto com fetos macerados e metemoglobinemia (DAVIDSON, MCENTEE e WRIGHT, 1965)

As lesões macroscópicas nos cordeiros com má formação variavam de ausência dos cascos, membros torcidos, prognatismo a grave artrogripose (GUMBRELL, 1990). Em animais não prenhes as lesões se caracterizam pela coloração marrom do sangue e das vísceras, musculatura esquelética vermelha intensa quando em contato com o ar, petéquias no endocárdio e mucosas cianóticas (DAVIDSON, DOUGHTY e BOLTON, 1941; MCKENZIE et al., 2004). A alteração de cor das vísceras, sangue e musculatura esquelética podem não ser observadas (DAVIDSON, DOUGHTY e BOLTON, 1941). Microscopicamente não foram observadas lesões (MCKENZIE et al., 2004).

Em caprinos a intoxicação espontânea por nitrato foi relatada na Índia. O surto ocorreu quatro dias após a introdução na pastagem de *Salvia coccinea*. Os sinais clínicos observados foram aborto, aumento da frequência respiratória e cardíaca, diminuição da temperatura corporal, fraqueza, ataxia, incoordenação, decúbito e morte rápida. Não há informação de lesão macro e microscópica. O diagnóstico foi baseado na quantidade de nitrato na planta,

conteúdo ruminal e sangue e pela resposta ao tratamento com azul de metileno (PAL et al., 1997).

2.4 ESPÉCIES SUSCEPTÍVEIS A INTOXICAÇÃO POR NITRATO/NITRITO

A espécie suína é a mais sensível à intoxicação por nitrato/nitrito, seguidos pelos bovinos e equinos (RADOSTITS et al., 2000). Também é relatada em alpacas (MCKENZIE, 2009), caninos, felinos (WORTH. et al., 1997), perus e galinhas (MARRETT e STJNDE, 1967) e equinos (ORUC, et al., 2010).

Em bovinos, no Brasil, há relatos de intoxicação por nitrato/nitrito por capim mandante (*Echinochloa polystachya*) e capim elefante (*Pennisetum pupuream*) no sertão da Paraíba (MEDEIROS et al., 2003) e *Avena sativa* e *Lolium sp.* em Santa Catarina (JONCK et al., 2013). Em outros países plantas como alfafa (AL-QUDAHA, ROUSANB e EREIFEJC, 2008), beterraba (SAVAGE, 1949), sorgo (NAGARAJAN, 2015), funcho (*Foeniculum vulgare*) (COSTAGLIOLA et al., 2014), *Brassica sp.* (MORTON e CAMPBELL, 1997), *Dactyloctenium radulans* (MCKENZIE et al., 2004) e *Pennisetum clandestinum* (BOURKE, 2007).

Em alpacas essa enfermidade ocorreu devido ao consumo de aveia (*Avena sativa*) (MCKENZIE et al., 2009). Intoxicação por nitrato/nitrito em equinos é considerada rara e foi associada ao consumo de alfafa com alto nível de nitrato. A susceptibilidade à intoxicação ocorre devido ao extenso ceco, que desempenha o mesmo papel do rúmen em ruminantes, na transformação do nitrato em nitrito (ORUC et al., 2010). As formas acidentais comumente ocorrem com produtos comerciais à base de nitrato (RADOSTITS, 2000).

Em caninos e felinos a forma acidental ocorreu devido ao erro de dosagem de nitrito de sódio na ração (WORTH. et al., 1997). Em suínos, pela água de condensação contaminada por polietileno (MCPARLAND et al., 1979) e pela obstrução de equipamento com a finalidade de redução de amônia no ambiente (VYT e SPRUYTTE, 2006). O consumo de água contaminada por explosivo a base de nitrato de amônia e diesel foi responsável pela intoxicação em bovinos (YONG, BRANDOW e HOWLETT, 1990). Intoxicação por nitrito (nitrito de sódio) também é relatado como método de controle populacional de javali, em países onde essa espécie causa grandes prejuízos à agricultura (LAPIDGE et al., 2012).

Em bovinos os sinais clínicos observados são salivação (ASBURG e RHODE; 1964; RADOSTITS et al., 2000) diarreia (RADOSTITS et al., 2000), timpanismo, mucosas cianóticas ou marrom (JONCK et al., 2013) e micções frequentes (DAVISON, DOUGHTY e BOLTON, 1941; VAN DIJK et al., 1983). O quadro clínico inicia entre quatro horas (RADOSTITS et al., 2000) até nove horas (MEDEIROS et al., 2003) após a ingestão. A morte ocorre após 30 minutos do início dos primeiros sinais clínicos (JONCK et al., 2013). O aborto ocorre como consequência do surto agudo (MCKENZIE et al., 2009), dias após a exposição (RADOSTITS et al., 2000) ou quando o nitrato contido na dieta está em níveis subletais (TOKARNIA et al., 2012).

Abortos em consequência do consumo de altos níveis de nitrato também já foram observados em alpacas (MCKENZIE, 2009). Em equinos, felinos e caninos também são descritos sinais clínicos semelhantes ao de ruminantes, como dificuldade respiratória, ataxia, mucosas de coloração marrom e aborto (ORUC et al., 2010; WORTH. et al., 1997).

Na necropsia o sangue apresenta coloração marrom (CARRIGAN e GARDNER, 1982; YERUHAM et al., 1997; RADOSTITS et al., 2000; OZMEN, 2003; JONCK et al., 2013) musculatura esquelética e cardíaca vermelha escura (DAVISON, DOUGHTY e BOLTON, 1941), cheiro de gases nitrosos durante a necropsia (DAVISON, DOUGHTY e BOLTON, 1941; TOKARNIA et al., 2012) e hemorragias no epicárdio (BOERMANS, 1990; OZMEN, 2003). Em equinos também se observou ruptura de útero, ceco e estômago (ORUC et al., 2010).

2.5 TRATAMENTO

O tratamento preconizado em casos de intoxicação por nitrato/nitrito é o azul de metileno (RADOSTITITS et al. 2002; BURROWS e WAY, 1975). Em ovelhas a dose de 10 ml de uma solução com 0,6% de azul de metileno e 0,9% de solução salina, intravenosa é capaz de reverter os sinais clínicos em aproximadamente meia hora (SCOTT, 1941). A dose recomendada por Pal et al., (1997), em cabras, é de oito mg/Kg, em solução de 1%, injetada intravenosa.

Tradicionalmente, a dose padrão, é de 1-2 mg/Kg, injetada via endovenosa em solução a 1%. Em ruminantes é possível usar dose até de 20 mg/Kg, porém a dose padrão garante resultados satisfatórios (RADOSTITS, et al., 2000).

2.6 TESTE DA DIFENILAMINA

Os componentes químicos do teste da difenilamina consistem em difenilamina, água destilada e ácido sulfúrico. O nitrato/nitrito ao reagir com a difenilamina, por meio de um processo de oxidação, forma a difenilbenzidina, que em contato com o ácido sulfúrico, torna a solução uma coloração azulada (HOUSHOLDER, DOLLAHITE e HULSE, 1966; JONCK et al., 2013). É considerado um método simples e complementar de diagnóstico, que pode ser utilizado a campo, para a detecção de nitrato e nitrito nas pastagens (TOKARNIA et. al., 2012) e em fluídos corporais como soro, bile e urina (HOUSHOLDER, DOLLAHITE e HULSE, 1966).

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

- Estudar os aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos da intoxicação espontânea por nitrato/nitrito em ovinos e caprinos e reproduzir experimentalmente a enfermidade.

3.2 ESPECÍFICOS

- Descrever surtos espontâneos de natimortos em ovelhas e cabras e nascimento de cordeiros e cabritos fracos, associados à intoxicação por nitratos/nitritos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DOENÇA ESPONTÂNEA

Foram realizadas visitas a cinco propriedades, quatro com criação de ovinos, nos municípios de Lages, Bom Retiro, São José do Cerrito e São Miguel do Oeste e uma com criação de caprinos no município de Luzerna, que tinham históricos de intoxicação por nitrato/nitrito com a finalidade de obter dados epidemiológicos e clínicos dos ovinos e caprinos naturalmente acometidos.

Oito cordeiros (Propriedade de São José do Cerrito) e uma ovelha (Propriedade de Lages) foram necropsiados e coletadas amostras de todas as vísceras, fixadas em formalina a 10%, que foram processadas rotineiramente, coradas pela técnica de Hematoxilina-Eosina (HE) e observadas no microscópio óptico.

Em todas as propriedades o teste da difenilamina foi realizado na pastagem de aveia ou azevém. Para isso, três gotas de extrato vegetal das folhas verdes obtidas por pressão manual, eram expostas sobre lâminas de vidro, e sobre estas adicionadas três gotas do reagente difenilamina. A reação era observada por alguns segundos, sendo considerada positiva quando a reação dava uma coloração azul a mistura e negativa quando não havia alteração da cor. A solução de difenilamina usada nos testes é composta por 0,5 g de difenilamina, 20 ml de água destilada e ácido sulfúrico concentrado em quantidade para completar 100 ml (RADOSTITS et al., 2000).

4.2 REPRODUÇÃO EXPERIMENTAL

4.2.1 Ovinos experimentais

Os experimentos foram realizados nos anos de 2015 e 2016 no Laboratório de Patologia Animal - CAV - UDESC. Foram utilizados 16 ovinos, da raça Lacaune, sendo quatro machos, duas fêmeas vazias e dez fêmeas prenhes em fase final de gestação, avaliadas por meio de exame ultrassonográfico. Os ovinos foram mantidos em aprisco para receber a

planta *ad libidum*. Diariamente era feito o exame clínico, considerando-se a coloração das mucosas, frequência respiratória e apetite.

4.2.2 Locais de colheita da planta

A reprodução experimental da doença foi realizada em duas etapas, a primeira no ano de 2015 e a segunda no ano de 2016. Na primeira etapa foi fornecido azevém coletado de três locais distintos: (1) Setor de Bovinocultura de Leite do CAV - UDESC (área de 1000 m² previamente adubada com NPK (nitrogênio, fósforo e potássio) e posterior adubação com 50 kg de uréia), (2) propriedade do município de Curitibaanos (SC), onde ocorreu surto de intoxicação espontânea em bovinos e (3) aveia coletada de uma propriedade de Bom Jesus (RS), positiva no teste da difenilamina.

No ano de 2016 foi utilizado azevém coletado no setor de Patologia Animal do CAV - UDESC (área de 600 m² adubada com 3500 litros de esterco de suíno e 200 kg de uréia) (Figura 1). Nas áreas pertencentes ao CAV - UDESC, as coletas foram realizadas diariamente e fornecidas no cocho. Na propriedade de Curitibaanos, a coleta foi realizada duas vezes na semana e na propriedade de Bom Jesus, coleta única. Os experimentos realizados estão delineados na Tabela 1.

Figura 1- Azevém utilizado na reprodução experimental. **A**- Setor de Bovinocultura - CAV - UDESC. **B**- Setor de Patologia Animal - CAV- UDESC.



Fonte: elaborada pelo autor, 2015 e 2016.

Tabela 1 - Ovinos utilizados no experimento, sexo, origem da pastagem e período de ingestão.

Ovino	Sexo	Mês/ano consumo	Pastagens/ propriedade da coletada	Período de consumo
01	Fêmea prenhe*	08/2015	Curitibanos	14 dias
02	Fêmea prenhe*	08/2015	Curitibanos	6 dias
03	Fêmea prenhe*	08/2015	Setor de Bovinocultura	3 dias
04	Fêmea prenhe*	08/2015	Setor de Bovinocultura	2 dias
05	Fêmea vazia	09/2015	Setor de Bovinocultura	14 dias
06	Fêmea prenhe*	09/2015	Setor de Bovinocultura	4 dias
07	Fêmea vazia	09/2015	Bom Jesus (RS)	3 dias
08	Macho	08-09/2016	Setor de Patologia	15 dias
09	Macho	08-09/2016	Setor de Patologia	15 dias
10	Macho	08-09/2016	Setor de Patologia	15 dias
11	Macho	08-09/2016	Setor de Patologia	15 dias
12	Fêmea prenhe*	09-10/2016	Setor de Patologia	19 dias
13	Fêmea prenhe*	09-10/2016	Setor de Patologia	24 dias
14	Fêmea prenhe*	09-10/2016	Setor de Patologia	22 dias
15	Fêmea prenhe*	09-10/2016	Setor de Patologia	31 dias
16	Fêmea prenhe*	09-10/2016	Setor de Patologia	33 dias

*fêmeas prenhes em fase final de gestação.

4.2.3 Análise de nitrato e teste da difenilamina

As amostras de pastagens foram colhidas de diferentes áreas de todos os piquetes e secadas a sombra. As análises foram realizadas no Laboratório de Química e Fertilidade do Solo e no Laboratório de Tratamento de Água e Resíduos do CAV-UDESC. Para a extração do nitrato, foi utilizada a metodologia de Tedesco et al., 1995 e para a quantificação o Standard Methods Water (EATON, 2005).

As amostras da matéria seca de azevém foram moídas e pesadas na quantidade de 0,2g cada uma e, a cada amostra adicionou-se 30 ml de KCl 1M. Essa solução foi agitada no

agitador elétrico por quinze minutos, filtrada em papel filtro e adicionado água destilada até completar 50 mL.

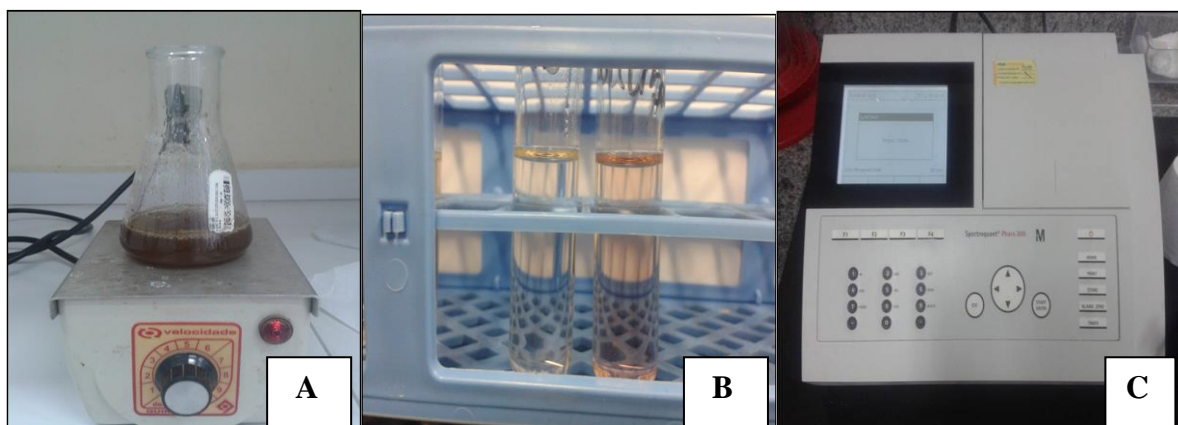
Para quantificação do nitrato, foram utilizados 250 µl da solução filtrada, 750 µl de solução água destilada/ácido sulfônico, 4 mL de ácido sulfúrico/ácido fosfórico 1:1 e 1 ml de 2,2 dimetilfenol/ácido acético. A solução permaneceu em descanso por 15 minutos até que atingiu a coloração rosa. A leitura foi realizada com auxílio de uma cubeta de 10 nm, no aparelho Spectroquant pharo 300[®] em uma onda de comprimento de 325 nm (Figura 2). Após a titulação fez-se o seguinte cálculo:

$$\% \text{ de Nitrato} = \left[\frac{C(\text{mg N/L}) \times 4,4 \times (V/1000)}{1000} \right] \times 100$$

g da matéria seca

O valor de C (mg N/L) corresponde ao valor de nitrogênio (N) do nitrato encontrado na titulação. O valor de 4,4 é o fator de correção, referente a concentração de nitrogênio que faz parte do nitrato. O peso molecular do nitrato é 62 e do nitrogênio é 14. Para cada 14 ppm de nitrogênio tem-se 62 ppm de nitrato. Para cada 1ppm de N temos 4,43 de nitrato. O (V) corresponde ao volume de líquido total utilizado na extração do nitrato. Amostras das plantas, dos piquetes utilizados na experimentação, foram coletadas semanalmente para o teste da difenilamina.

Figura 2- Análise do nitrato. A - extração do nitrato da planta no agitador elétrico. B - coloração rósea após 15 minutos. C - leitura da concentração de nitrato no aparelho Spectroquant pharo 300[®].



Fonte: elaborada pelo autor, 2016.

5 RESULTADOS

5.1 DOENÇA ESPONTÂNEA

5.1.1 Histórico e quadro clínico e patológico

Foram obtidos históricos de três surtos de intoxicação por nitrato/nitrito em ovinos adultos e dois surtos de natimortos ou nascimento de cordeiros e cabritos fracos. Os primeiros relatos de mortalidade de ovelhas ocorreram no mês de junho de 2013 nos municípios de Lages e Bom Retiro, região serrana de SC, e em São Miguel do Oeste, Oeste catarinense, em setembro de 2016. Na primeira propriedade, uma ovelha pariu pela manhã, ficou fechada na baia e recebeu aveia *ad libitum* no cocho. Foi encontrada morta na manhã seguinte, sem observação dos sinais clínicos. Não há informação sobre a adubação utilizada.

Na segunda propriedade, ovinos da raça Texel estavam em uma pastagem de azevém, onde anteriormente havia sido cultivada soja. No primeiro dia foram encontrados cinco ovinos mortos. Os ovinos foram retirados da pastagem e não ocorreram mais mortes. Após a reintrodução dos ovinos, mais três animais foram encontrados mortos. O terceiro surto ocorreu em uma área composta por azevém (*Lolium* spp.) e tifton (*Cynodon* spp.) adubada com esterco de galinha e fertilizante químico. No final da manhã, dezoito ovelhas, três prenhes e quinze vazias, foram colocadas no piquete e, após uma hora e meia, uma ovelha foi encontrada morta sem observação dos sinais clínicos. No final da tarde, duas ovelhas apresentaram incoordenação motora e dificuldade respiratória, seguida de morte. Uma ovelha em fase final de gestação abortou no dia seguinte.

No mês de julho de 2013 um criador de ovinos, no município de São José do Cerrito - SC informou sobre o nascimento de cordeiros fracos e natimortos. Essa propriedade continha um plantel de 120 ovelhas prenhes em diferentes fases de gestação. As ovelhas que estavam na véspera do parto eram colocadas em um piquete constituído somente por azevém, adubado com uréia, quando atingiu a altura de aproximadamente 15 cm. Nessa área, no ano anterior havia sido cultivado feijão. No total, 27 ovelhas pariram cordeiros natimortos ou nasceram fracos, não demonstraram interesse em mamar e morreram após três ou quatro dias. O período entre a entrada das ovelhas prenhes no piquete e os nascimentos dos cordeiros natimortos e fracos foi de até três dias.

Um segundo surto de natimorto também foi observado em caprinos no mês de junho de 2015, em Luzerna, Meio Oeste catarinense. Dezesete cabras que estavam em fase final da gestação, foram colocadas em um piquete de aveia adubado com cama de aviário, em que anteriormente foi cultivado feijão. No total, nasceram quatorze cabritos natimortos e seis cabritos fracos que morreram entre dois e quatro dias.

Em todas as propriedades os surtos espontâneos ocorreram após dias chuvosos precedidos por períodos de seca e, somente nos piquetes super adubados e positivos no teste da difenilamina. O mesmo teste foi realizado em outros piquetes das propriedades, resultando negativo. Os resultados da doença espontânea são apresentados na Tabela 2.

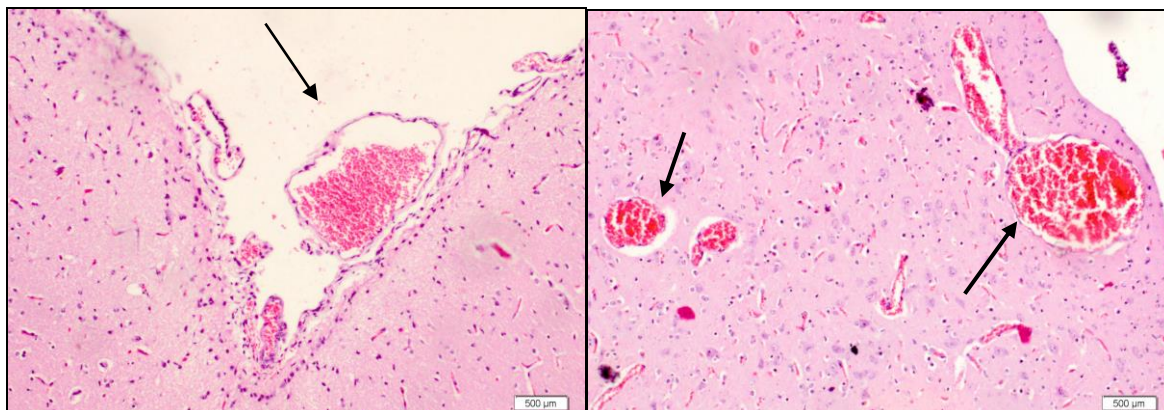
As necropsias foram realizadas nas propriedades de Lages e São José do Cerrito - SC. Na única ovelha necropsiada (Propriedade de Lages), os principais achados macroscópicos foram o sangue escuro e a carcaça levemente marrom. Microscopicamente não havia lesões. Nos cordeiros que nasceram fracos, observou-se caquexia, edema do tecido subcutâneo e pequena quantidade ou ausência de leite coagulado no abomaso. Em um cordeiro, observaram-se pulmões com petéquias na pleura e conteúdo sanguinolento no abomaso. Em dois cordeiros natimortos necropsiados, observou-se congestão no fígado, encéfalo e pulmão. Microscopicamente havia congestão e dilatação dos vasos sanguíneos do sistema nervoso central, principalmente nas meninges (Figura 3).

Tabela 2 - Resultados das intoxicações espontâneas por nitrato/nitrito. Pastagem utilizada, cultivo anterior e adubação, número total de animais, total de animais mortos e teste da difenilamina.

Propriedade	Pastagem	Cultivo anterior/adubação	Número total de animais	Total de animais mortos	Teste da difenilamina
Lages	Aveia	Não informado	1 ovelha recém parida	1 ovelha	Positivo
Bom Retiro	Azevém	Cultivo de soja	Não informado	8 ovelhas	Positivo
São José do Cerrito	Azevém	Cultivo de feijão/uréia	120 ovelhas prenhes	27 cordeiros	Positivo
Luzerna	Aveia	Cultivo de feijão/cama de aviário	17 cabras	20 cabritos	Positivo
São Miguel do Oeste	Azevém	Milheto/cama de aviário/NPK*	18 ovelhas vazias e 3 prenhes	3 ovelhas e um aborto	Positivo

*NPK - Nitrogênio, Fósforo e Potássio.

Figura 3 - Intoxicação por nitrato/nitrito em ovino. Congestão e dilatação dos vasos sanguíneos do sistema nervoso central. Coloração HE. Obj 20x.

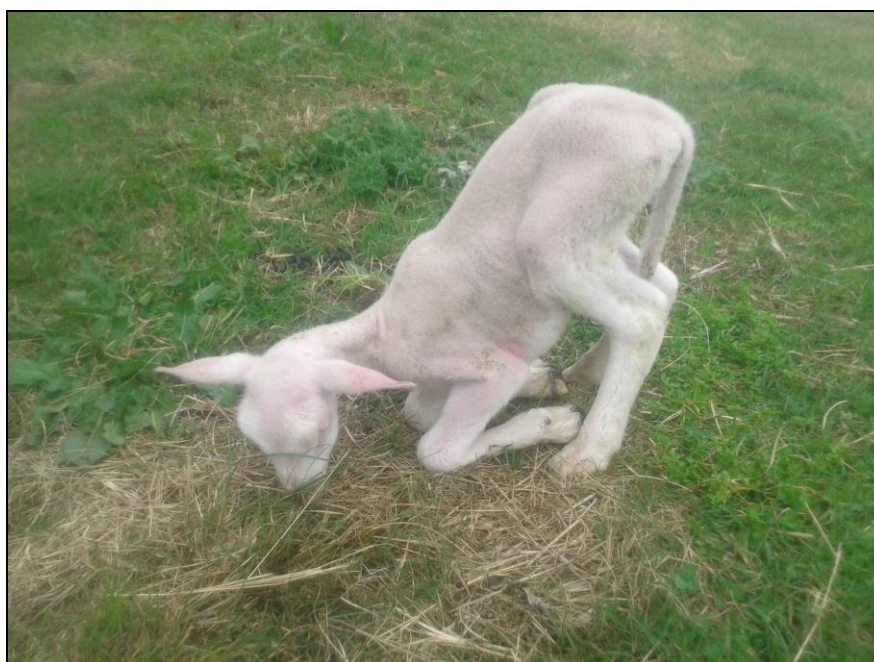


Fonte: elaborada pelo autor, 2016.

5.2 REPRODUÇÃO EXPERIMENTAL

As duas ovelhas vazias que receberam azevém durante três e 14 dias e os quatro machos que receberam a planta por um período de 15 dias, não apresentaram alterações clínicas. Das dez ovelhas prenhes utilizadas na experimentação, três pariram cordeiros fracos e com inabilidade em mamar sozinhos. A cordeira da ovelha nº 3 nasceu fraca, com dificuldade em se manter em estação e mamar. Permaneceu em decúbito e iniciou a caminhar com bastante dificuldade após três dias (Figura 4). Dois dias após o nascimento foi fornecida alimentação na mamadeira, na qual mamou com dificuldade. A partir do nono dia, mamou sozinha sem o auxílio da mamadeira, caminhava sem dificuldade e demonstrava comportamento mais ativo. Outra ovelha (nº 12) pariu duas cordeiras, uma que morreu logo após o parto e a outra com dificuldade em encontrar o teto, mamando apenas quando auxiliada ao colocar o teto na boca. Após três dias conseguiu mamar sozinha. O cordeiro da ovelha nº15 nasceu fraco, não demonstrava interesse em mamar e ao ser forçado a mamar, demonstrava desconforto, permanecia a maior parte do tempo deitado e vocalizava constantemente; no quinto dia mamou sozinho. As sete ovelhas restantes, pariram cordeiros normais. Os resultados deste experimento estão na Tabela 3.

Figura 4 - Intoxicação por nitrato/nitrito em ovinos. Cordeiro fraco e com dificuldade em se manter em estação.



Fonte: elaborada pelo autor, 2015.

Tabela 3 - Reprodução experimental da intoxicação por nitrato/nitrito. Pastagem utilizada, adubação, número total de animais, número de animais doentes e mortos e % de nitrato na matéria seca.

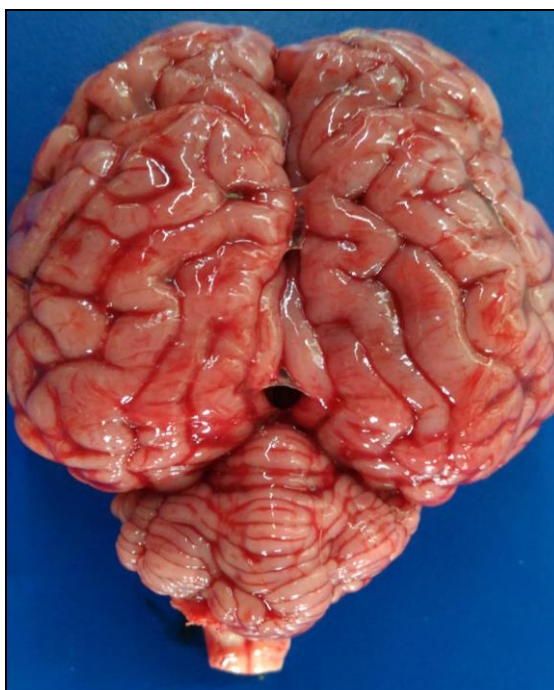
Propriedade	Pastagem	Área utilizada/adubação	Nº total de animais	Nº doentes/nº mortos	Tempo de ingestão	% (NO ₃)
Curitibanos	Azevém	Esterco de suíno	2 ovelhas prenhes*	0	6 e 14 dias	2,54%
Setor de Bovinocultura	Azevém	NPK/Uréia	3 ovelhas prenhes* e 1 vazia	1 cordeiro fraco	2, 4 e 14 dias	3,2%
Bom Jesus	Aveia	Cultivo de soja/uréia	1 ovelha vazia	0	3 dias	Não realizado
Setor de Patologia	Azevém	Esterco de suíno e uréia	5 ovelhas prenhes* e 4 machos	2 cordeiros fracos/ 1 cordeiro	15 a 33 dias	1,02%

* fêmeas prenhes em fase final de gestação

5.2.1 Lesões macroscópicas e histológicas

As alterações macroscópicas restringiram-se ao sistema nervoso central, caracterizada por coloração vermelha do encéfalo (Figura 5). Microscopicamente foi observada congestão e dilatação acentuada dos vasos sanguíneos no encéfalo.

Figura 5 - Intoxicação por nitrato/nitrito em cordeiro natimorto. Coloração vermelha do sistema nervoso central.

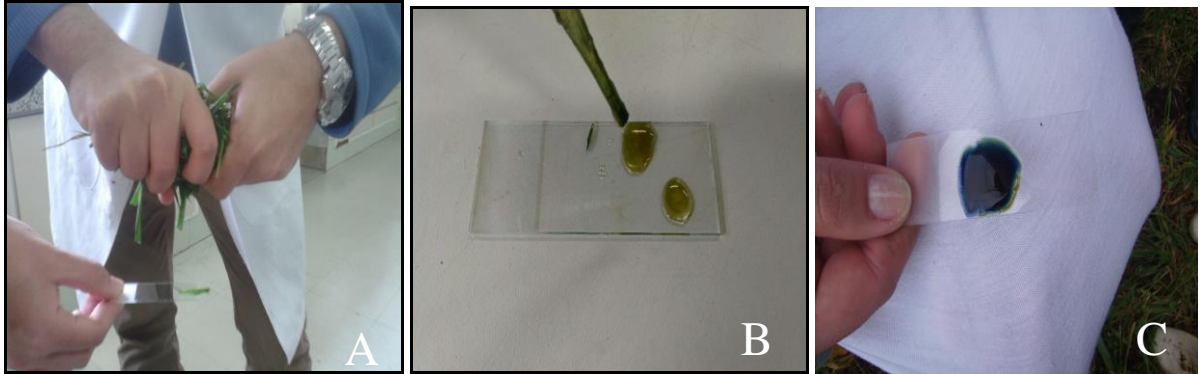


Fonte: elaborada pelo autor, 2016.

5.2.2 Análise de nitrato e teste da difenilamina.

O teste da difenilamina (Figura 6) em todas as pastagens da reprodução experimental resultou fortemente positivo. As amostras de pastagem analisadas revelaram teores de nitrato entre 1,02 e 3,2 %.

Figura 6 – Teste da difenilamina. A - Obtenção do extrato vegetal. B - Adição da difenilamina. C – Reação azul, indicativa da presença de nitrato.



Fonte:elaborada pelo autor, 2015.

6 DISCUSSÃO

Nos casos espontâneos observados neste trabalho, os ovinos e caprinos acometidos estavam em pastagem de aveia ou azevém com excessiva adubação nitrogenada, devido ao uso de uréia, esterco de galinha e NPK (nitrogênio, fósforo e potássio) e, ocorreram após dias chuvosos precedidos de períodos de seca. O uso indiscriminado de matéria orgânica e fertilizantes associados a fatores climáticos de seca seguida de chuva são fatores que determinam o acúmulo de nitrato nas plantas (BINTA e MUSHI, 2012; JONCK et al., 2013). Em uma propriedade foram observadas mortes de ovinos em pastagem de azevém em que anteriormente foi cultivada soja, sem adição de adubação química ou orgânica. Segundo Spagnollo et al.(2002), as leguminosas tem como principal função a reciclagem de nutrientes, principalmente na fixação biológica do nitrogênio. Este fator explica o acúmulo de nitrato no azevém sem a adição de nitrogênio químico e/ou orgânico.

Intoxicações espontâneas por nitrato/nitrito em ovinos são descritas na Austrália (FAIRNIE, 1969; MCKENZIE et al., 2004) e Inglaterra (GUMBRELL, 1990) e em caprinos na Índia (PAL et al., 1997). Nos surtos observados por esses autores não há informações sobre a utilização de adubo, apenas que foram encontradas altas concentrações de nitrato na planta ou no líquido ruminal (GUMBRELL, 1990; PAL et al., 1997; MCKENZIE et al., 2004). No surto observado por Fairnie (1969) acredita-se que a fonte de nitrato esteja associada ao acúmulo de esterco dos animais, uma vez que não houve uso de fertilizante químico ou outro tipo de adubação.

Experimentalmente, os cordeiros fracos se recuperaram após auxílio na amamentação. Os cordeiros fracos nascidos nas propriedades nas quais houve surto espontâneo, a tentativa de auxiliar na amamentação dos animais não foi bem sucedida, provavelmente devido ao grande número de animais afetados o que dificultou a realização do tratamento.

No presente estudo, as ovelhas em fase final de gestação, consumiram azevém por um período de 21 a 31 dias antes do parto, e não foram observadas malformações nos cordeiros. Gumbrell (1990) descreve aborto e o nascimento de cordeiros com deformidades devido ao consumo prolongado de aveia com altos níveis de nitrato desde o início da gestação. No presente caso a ingestão foi pouco tempo antes do nascimento.

Nos ovinos adultos, usados na experimentação, não foram observados sinais clínicos e mortes, como ocorreram nos surtos espontâneos de Lages, Bom Retiro e São Miguel do

Oeste. Na maioria das propriedades as mortes, sem observação dos sinais clínicos, ocorreram no mesmo dia em que os ovinos tiveram acesso a pastagem de aveia ou azevém. O mesmo curso clínico foi relatado por Fairnie (1969) e McKenzie et al., (2004). A dificuldade da observação dos sinais clínicos deve-se a rápida evolução da doença. Em experimento realizado por Davidson et al. (1941) e Diven et al. (1964) o início dos sinais clínicos foi entre 25 minutos a uma hora, caracterizados por dificuldade em se locomover, fraqueza, dificuldade respiratória e mucosas de coloração marrom. O período entre o consumo de nitrato e a morte foi de uma a três horas. Experimentalmente, Newsom et al., (1936) não observaram sinais clínicos em ovelhas que consumiram aveia com alto nível de nitrato.

A quantidade de nitrato na matéria seca no azevém fornecido experimentalmente aos ovinos variou de 1,02 a 3,2%. Nesse estudo três cordeiros nasceram fracos e com dificuldade em se alimentar sozinhos e um natimorto, sendo que em um cordeiro a fraqueza e o tempo de recuperação foram maiores. A ovelha, mãe desse cordeiro, consumiu o azevém com 3,2% de nitrato. As ovelhas que pariram um natimorto e os dois cordeiros fracos, consumiram o azevém com teor de 1,02 % de nitrato. De acordo com Davidson et al., (1965) a quantidade de 2,6 % de nitrato na aveia pode ser letal para ovinos, enquanto que o teor de 0,7% (DICKSON e MACPHERSON, 1976) e 1,7 % de nitrato de sódio na água (SEERLEY et al., 1965) é considerado seguro para essa espécie.

De acordo com Sinclair e Jones. (1964) e Davison et al. (1965), pode ocorrer adaptação dos animais alimentados diariamente com nitrato. Esse mecanismo ainda não é bem esclarecido, Sinclair e Jones (1964) relacionam a adaptação às bactérias ruminais, enquanto que, Davison et al. (1965) acreditam que a prolongada exposição à metemoglobinemia, aumenta a produção de eritrócitos no sangue.

O período de consumo de azevém pelos ovinos foi de um a 31 dias, a ovelha que pariu um natimorto e um cordeiro fraco consumiu azevém durante 19 dias e as outras duas ovelhas durante três e 31 dias, respectivamente.

O percentual de natimorto e nascimento de animais fracos seguido de morte, dos casos naturais, nos ovinos foi de 22,5 % e nas cabras de 100%. A taxa de aborto observada por Gumbell (1990) em ovinos foi de 15% e por Pal et al. (1997), a maioria das cabras abortaram. De acordo com Davidson e Sinclair (1964) o aborto ocorre quando o consumo de nitrato não atinge altos níveis de metemoglobinemia. Aborto associado ao consumo de aveia e azevém com excesso de adubação também é observado com frequência em bovinos (JONCK et al., 2013).

As lesões macroscópicas encontradas em ovinos adultos que morreram pela intoxicação espontânea por nitrato/nitrito desse estudo foram semelhantes às encontradas por outros autores (FAIRNIE, 1969; DAVIDSON, DOUGHT e BOLTON, 1941 MCKENZIE et al., 2004). Na literatura não há descrição macroscópica dos natimortos, apenas as má formações observadas por Gumbell (1990). No Brasil, má formações e abortos em ovinos e caprinos estão relacionados ao consumo de Jurema preta (*Mimosa tenuiflora*) (SANTOS, DANTAS, RIET-CORREA, 2012), no entanto essa planta não ocorre na região desse estudo descartando-se essa possibilidade.

Não foram observadas alterações histológicas significativas nos ovinos que morreram na intoxicação espontânea e experimental. A ausência de lesões microscópicas também é citada por Mckenzie et al. (2004), enquanto que Fairnie (1969) relata em ovinos, edema e congestão pulmonar. Essa mesma alteração histológica é observada na intoxicação por nitrato/nitrito em equinos (ORUC et al., 2010). Segundo Radostits (2000) o nitrato produz vasodilatação que pode contribuir para o desenvolvimento da hipóxia. Em todos os cordeiros avaliados nesse estudo, observou-se vasodilatação e congestão nos vasos do sistema nervoso central, principalmente nos vasos das meninges.

O teste da difelinamina é considerado um teste qualitativo padrão para a intoxicação por nitrato/nitrito. A reação é considerada positiva quando se torna azul escura, devido aos anions do nitrato oxidarem a difenilamina (HOUSHOLDER, DOLLAHITE e HULSE, 1965). O teste da difenilamina realizado nas amostras coletadas onde ocorreram os surtos e naquelas usadas na experimentação, resultou positivo.

O tratamento específico para intoxicação por nitrato/nitrito é o azul de metileno (PAL et al., 1997; RADOSTITS et al., 2000; VAN DIJK et al., 1983). Ovinos e caprinos que receberam a dose de quatro mg/kg de peso vivo de azul de metileno, via intravenosa se recuperaram logo após a aplicação (PAL et al., 1997). Nos casos espontâneos não foi realizado tratamento devido a rápida evolução dos sinais clínicos.

O nascimento de cordeiros e cabritos fracos ou natimortos em decorrência da ingestão de plantas que contenham nitrato alto, deve ser diferenciado de outras enfermidades como brucelose (CLEMENTINO et al., 2007), toxoplasmose (MOTTA et al., 2008; SILVA et al., 2003), listeriose (RISSI et al., 2006) e campilobacteriose (VARGAS et al., 2005) e da intoxicação por *Ateleia glazioviana* (STOLF et al., 1994).

A aveia (*Avena sativa*) e o azevém (*Lolium sp.*) são amplamente utilizados na região Sul do país. Quando estas gramíneas são cultivadas em solos com adubação nitrogenada excessiva e na ocorrência de período seco seguido de chuva, ocorre o acúmulo de nitrato

nessas plantas favorecendo, dessa forma, intoxicação em bovinos, ovinos e caprinos, embora as duas últimas espécies sejam mais resistentes que os bovinos.

7 CONCLUSÃO

Surtos de natimorto ou nascimento de cordeiros e cabritos fracos em ovelhas e cabras sob pastejo de aveia (*Avena sativa*) e azevém (*Lolium spp.*) com excesso de adubação nitrogenada podem ser atribuídos a intoxicação por nitrato/nitrito.

Pastagens de aveia (*Avena sativa*) e azevém (*Lolium spp.*) com excesso de adubação nitrogenada e períodos de seca seguidos de chuva devem ser considerados como fatores de risco para a ocorrência da intoxicação por nitrato/nitrito em ovinos e caprinos.

REFERÊNCIAS

AL-QUDAHA, K.M; ROUSANB, L.M; EREIFEJC, K.L. Nitrate/nitrite poisoning in dairy cattle associated with consumption of forages irrigated with municipally treated wastewater. **Toxicological & Environmental Chemistry**. V 91, 2009.

ALVIM, M.J. Produção e manejo de forrageiras de inverno: aveia e azevém. Curso de Pecuária Leiteira. Coronel Pacheco, MG: EMBRAPA – CNPGL, 1990. 28p. (EMBRAPA - CNPGL. documentos, 42).

ASBURG, A. C.; RHODE, E. A. Nitrite intoxication in Cattle: The effects of lethal doses of nitrite on blood pressure. **American Journal of Veterinary Research**, v. 25(107): 1010-1103, 1964.

BINTA, M. G.; MUSHI, E.Z. Environmental Factors Associated with Nitrate Poisoning in Livestock in Botswana. **Journal Petroleum Environmental Biotechnology**. v. 3, (6) p 2-5. 2012.

BOERMANS H. J. Diagnosis of nitrate toxicosis in cattle, using biological fluids and a rapid chromatographic method. **American Journal of Veterinary Research**, v. 51, (3) 1990.

BOURKE, C.A. A review of kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum*) poisoning in cattle. **Australian Veterinary Journal** .v. 85(7). 2007.

BURROWS, G. E.; WAY, J. L. Methylene Blue vs. Nitrite. Proceedings - Annual Meeting of the United States Animal Health Association, v. 79, p. 266-270, 1975.

CARRIGAN, M. J.; GARDNER, I. A. Nitrate poisoning in cattle fed sudax (*Sorghum* sp. hybrid) hay. **Australian Veterinary Journal**, v. 59, p. 155-157, 1982.

CLEMENTINO, I.J.; ALVES, C.J.; AZEVEDO, S.S. et al. Inquérito soro-epidemiológico e fatores de risco associados à infecção por *Brucella ovis* em carneiros deslanados do semiárido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.27, p.137-143, 2007.

DAVISON, W. B.; DOUGHTY, J. L.; BOLTON, J. L. Nitrate Poisoning of Livestock. **Canadian Journal of Comparative Medicine**. v. 11, p. 303-313, 1941.

DICKSON, I. A.; MACPHERSON, A. The effects on ewes and lambs of grazing pasture containing differing levels of nitrate-nitrogen. **Journal of the British Grassland Society**. v. 31, 129-134. 1976.

DIVEN, R. H.; REED, R. E.; PISTOR, W. J. The physiology of nitrite poisoning in sheep. **Veterinary Toxicology**. v. 11. p. 638 - 643. 1964.

EATEON, A. D. American Public Health Association American Water Association Water Environment Federation. **Standard Methods for the examination of water and wastewater**. 21 ed. Washington, D. C. Centennial ed., 2005.

FAIRNIE, I. J. Nitrite poisoning in sheep due to capeweed (*Arctotheca calendula*). **Australian Veterinary Journal** . v. 45, 1969.

GUMBELL, R. C. Nitrate poisoning and foetal abnormalities in sheep. **Surveillance** v.17, n (1) 1990.

HOUSHOLDER, G. T.; DOLLAHITE, J. W.; HULSE, M.T.R. Dyphenylamine for the diagnosis of nitrate intoxication. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 148, p. 662-665, 1966.

JONCK, F. et al., Intoxicação espontânea e experimental por nitrato/nitrito em bovinos alimentados com *Avena sativa* (aveia) e/ou *Lolium* spp. (azevém). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v 33(9):1062-1070, 2013.

KERBAUY, G.B., 2012. **Fisiologia Vegetal**. 2A edição, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 431p.

KLEIN, B.G. **Cunningham Tratado de Fisiologia Veterinária**. Editora Elsevier. 5 edição. 624 p. 2014.

LAPIDGE, S. et al., Development of a Feral Swine Toxic Bait (Hog-Gone®) and Bait Hopper (Hog-Hopper™) in Australia and the USA. Proceedings of the 14th WDM Conference .2012.

LEWIS, D. The metabolism of nitrate and nitrite in the sheep. **Biochemical Journal**, v. 48, p. 175-180, 1950.

MARRET, L. E.; STJNDE, M. L. The Use of Turkey Poults and Chickens as Test Animals for Nitrate and Nitrite Toxicity. **Poultry Science**. V. 47 511: 517. 1968.

MCPARLAND, P. J.; McRORY, F. J.; BELL, N. Nitrite poisoning in pigs. The **Veterinary Record**, v. 106, p. 201, 1979.

MCKENZIE R. A., et al. Nitrate-nitrite toxicity in cattle and sheep grazing *Dactyloctenium radulans* (button grass) in stockyards. **Australian Veterinary Journal**, v. 82, n. 10, p. 603-604, 2004.

MCKENZIE, R. A. et al. Alpaca plant poisonings: nitrate-nitrite and possible cyanide. **Australian Veterinary Journal**, v. 87, n. 3, p. 113-115, 2009.

MCGRATH, S. R. Extent of utilisation of dual-purpose wheat for grazing by late-pregnant and lambing ewes and producer-reported incidence of health issues in southern New South Wales. **Australian Veterinary Journal**. v.91, n. 10. 2013.

MEDEIROS, R. M. T. et al. Intoxicação por nitratos e nitritos em bovinos por ingestão de *Echinochloa polystachya* (capim-mandante) e *Pennisetum purpureum* (capim-elefante) no sertão da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 23, n. 1, p. 17-20, 2003.

MORAES, Y. J. B. **Forrageiras: conceitos, formação e manejo**. Livraria e Editora Agropecuária, Guaíba, 1995. 215p.

MOTTA, A. C. et al. Aborto em ovinos associado à toxoplasmose: Caracterização sorológica, anátomo-patológica e imunohistoquímica. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, p. 204-208, 2008.

NAGARAJAN, K. et al. Confirmation of acute nitrate poisoning differentiating from anthrax in three Indian indigenous cattle. **Journal Advanced. Veterinary Animal. Research**. v. 2(1): 30-33.2015.

NEWSOM ,I.E., et al.. Oat hay poisoning. **Journal American Veterinary. Med. Assoc.** 1937.

PICKRELL, J. A.; OEHME, F. W.; HICKMAN, S. R. Drought increases forage nitrate and cyanide. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 33, n. 3, p.247-251, 1991.

ORUC, H.H. Nitrate Poisoning in Horses Associated With Ingestion of Forage and Alfalfa. **Journal of Equine Veterinary Science**. V 30 (3), 2010.

OZMEN, O. Nitrate poisoning in cattle fed *Chenopodium album* hay. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 45, n. 2, p.83-84, 2003.

PAL, B et al., Nitrate bearing *Salvia coccinea* poisoning in Gaddi goats in Kangra Valley. **Indian Journal of Animal Sciences**. v. 67, n. 1, p. 37 - 38. 1997.

RISSI, D. R. et al. Forma nervosa de listeriose em caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. V. 26. 14-20. 2006.

RADOSTITS, O. M., et al. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. cap.32, p. 1472-1547.

ROGERS, P. A. M; HOPE-CAWDERY, M. J. Monensin, ketosis and nitrate toxicity in cows. **Veterinary Record**, v. 106, p. 311-312, 1980.

SANTOS, J. R. S.; DANTAS F. M. D. ;RIET-CORREA, F. Malformações, abortos e mortalidade embrionária em ovinos causada pela ingestão de *Mimosa tenuiflora* (Leguminosae). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 32 (11). 2012.

SAVAGE, A. Nitrate Poisoning from Sugar Beet Tops. **Canadian Journal of comparative**. Vol. XIII-1. 1949.

SILVA, A. V. et al., Toxoplasmose em ovinos e caprinos: estudo soropidemiológico em duas regiões do Estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência Rural**. v 33: (1). 2003.

SEERLEY R W, et al. Effect of nitrate or nitrite administered continuously in drinking water for swine and sheep. **Journal Animal Science**. v. 24. 1965.

SPAGNOLLO, E. et al., Leguminosas estivais intercalares como fonte de nitrogênio para o milho, no sul do Brasil. **Revista Brasileira Ciência do Solo**. 26:417-423. 2002.

STOLF, L. et al., Aborto em bovinos causado pela ingestão de *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 14(1):15 – 18. 1994.

TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5 edição. 2012. Editora: Artmed. 954p.

TEDESCO, M. J. et al. Análises de solo, plantas e outros materiais. Boletim Técnico de Solos, 5. Porto Alegre : Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia 1995. 174p.

TOKARNIA C. H. et al., **Plantas Tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Editora Helianthus, 586p. Plantas que Causam Intoxicação por Nitratos/nitritos. p. 461-464. 2012.

VAN DIJK A., et al. Treatment of nitrate intoxication in a cow. **Veterinary Record**, v. 112, n. 12, p. 272-279, 1983.

VARGAS, A.C. et al. Isolamento de *Campylobacter jejuni* em feto ovino abortado: relato de caso. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57(3). 2005.

ZACHARY, J.F; MCGAVIN, M.D.Bases da Patologia em Veterinária. 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. 13246p.

WANG, L. C.; GARCIA-RIVERA, J.; BURRIS, R.H. Metabolism of nitrate by cattle. **Biochemical Journal**, v. 81, n. 237, p. 237-242, 1961.

WORTH, A.J. et al.,. Nitrite poisoning in cats and dogs fed a commercial pet food. **New Zealand Veterinary Journal**, v.45 (5). p.193-195.1997.

YERUHAM, I. et al. Nitrate toxicosis in beef and dairy cattle herds due to contamination of drinking water and whey. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 39, n.(5) p. 296-298, 1997.

YONG, C.; BRANDOW, R. A.; HOWLETT, P. An unusual cause of nitrate poisoning in cattle. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 31, p. 118 -1990.