

NATHALIA DOS SANTOS WICPOLT

**ARTROGRIPOSE E CONDRODISPLASIA EM BEZERROS NASCIDOS DE VACAS
ALIMENTADAS COM BAGAÇO DE MAÇÃ**

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: Prof. Dr. Aldo Gava

LAGES, SC

2018

Ficha catalográfica elaborada pelo(a) autor(a), com
auxílio do programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UDESC

Wicpolt, Nathalia
ARTROGRIPOSE E CONDRODISPLASIA EM BEZERROS
NASCIDOS DE VACAS ALIMENTADAS COM BAGAÇO DE MAÇÃ /
Nathalia Wicpolt. - Lages, 2018.
48 p.

Orientador: Aldo Gava
Tese (Doutorado) - Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages,
2018.

1. bagaço de maçã. 2. artrogripose. 3.
condrodisplasia. 4. bezerro. I. Gava, Aldo. II.
Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa
de Pós-Graduação. III. Título.

NATHALIA DOS SANTOS WICPOLT

**ARTROGRIPOSE E CONDRODISPLASIA EM BEZERROS NASCIDOS DE VACAS
ALIMENTADAS COM BAGAÇO DE MAÇÃ**

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.

Banca Examinadora:

Orientador:



Dr. Aldo Gava - UDESC

Membros:



Dra. Ana Lucia Schild - UFPel



Dr. David Driemeier - UFRGS



Dr. Bruno Leite dos Anjos - UNIPAMPA



Dr. André Thaler Neto - UDESC

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e orixás, pela vida e pela oportunidade de cursar doutorado, o caminho foi longo, mas com suas bênçãos, hoje finalizo esta etapa e posso dizer que sou dona da minha história.

Ao meu pai Umberto Luis Wicpolt, obrigado pai por sempre ter confiado no meu potencial e me incentivado a seguir meus objetivos. Saudades...

A minha mãe Adriani, pela vida, pelos incentivos constantes e por todo apoio, muito obrigada mãe.

A minha avó Eloisa, mais que uma avó, minha segunda mãe. Obrigada vó por sempre acreditar em mim.

As minhas irmãs, Carolina, Shaiani e Thauana, meu sobrinho João Vitor e meu cunhado Tanagi, muito obrigada por serem minha família, por sempre torcerem por mim.

As minhas amigas que mesmo estando longe, nunca deixaram de me apoiar, Elis, Ana Rita, Caroline e Gabriela, gratidão pela amizade de vocês. Também agradeço a Raissa, por ser minha parceira aqui em Lages em todos os momentos.

Aos amigos de Lages que a Udesc me proporcionou, obrigada pelas risadas, pelo acolhimento e pelo incentivo.

A toda equipe do laboratório de Patologia Animal, pelo apoio na realização desse trabalho, muito obrigada.

Ao meu orientador, agradeço pela confiança em me orientar, pelos ensinamentos repassados, pela paciência, amizade e carinho dispendidos a mim. Muito obrigada professor!

Agradeço a equipe do LARP (Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), pela contribuição na análise de resíduos químicos no bagaço de maçã.

Ao professor André Thaler por ter cedido os animais utilizados no experimento, muito obrigada pela importante contribuição.

A Udesc pela oportunidade de cursar o doutorado, bem como o FUMDES (UNIEDU) pela concessão de bolsa durante os 4 anos do curso, muito obrigada.

E por último, mas não menos importante, agradeço aos animais que participaram e contribuíram para realização dessa pesquisa e para o meu aprendizado. Bem como, meu pequeno Johnnie pelo companheirismo.

A todos, minha eterna gratidão!

RESUMO

Nascimento de bezerros com artrogripose e condrodisplasia tem desencadeado suspeitas de estar relacionados ao consumo de bagaço de maçã por vacas prenhas. Surtos ocorreram nos municípios de Lages (Santa Catarina) entre os anos de 2007 e 2012, e Ipê (Rio Grande do Sul), entre os anos de 2011 e 2012. Os bezerros apresentavam deformidade óssea caracterizada por artrogripose principalmente dos membros anteriores e condrodisplasia. Na necropsia as alterações observadas restringiam-se a membros curvos e grossos e, em alguns casos, havia aumento de volume dos ossos do crânio. Microscopicamente não foram observadas lesões significativas. Experimentos foram conduzidos em duas etapas, a primeira no ano de 2015, entre os meses de setembro-dezembro onde foram utilizadas 16 vacas prenhas da raça holandês. Estas foram divididas em 4 grupos, assim distribuídos: Grupo 0: controle (5 vacas); Grupo I: gestação 1 mês (4 vacas); Grupo II: gestação 3 meses (4 vacas); Grupo III: Gestação 6 meses (3 vacas). A segunda etapa foi realizada em abril de 2016 a fevereiro de 2017. Foram utilizadas 12 vacas prenhas da raça holandês, divididas em grupo 0: Controle (6 vacas), Grupo I: gestação 1 mês (3 vacas), Grupo II: gestação 3 meses (3 vacas). Todas receberam bagaço de maçã na dose de 25 kg/dia/vaca. Para o primeiro experimento, uma vaca do grupo III pariu uma bezerra, com ausência completa das vértebras coccígeas e cauda, encurvamento leve dos membros posteriores, escoliose na coluna torácica e dificuldade de locomoção. Decorridos 30 dias do nascimento, manifestou diarreia e pouco desenvolvimento, sendo eutanasiada para necropsia. Na macroscopia, havia malformações na coluna torácica, articulações e no aparelho genitourinário. Em relação ao segundo experimento uma vaca do grupo I pariu uma bezerra com membros pélvicos e torácicos, curvos e com articulações grossas e “achinelamento” de cascos. Na histologia de ambas bezerras, não foram observadas lesões na cartilagem epifisária do úmero, fêmur, costelas, vértebras e ossos da base do crânio, assim como nos órgãos do aparelho genitourinário. Amostras do bagaço de maçã utilizado na experimentação foram congeladas e enviadas para avaliação residual de agrotóxicos.

PALAVRAS CHAVE: Bagaço de maçã. Artrogripose. Condrodisplasia. Bezerro.

ABSTRACT

Calves being born with arthrogryposis and chondrodysplasia has been triggering suspicions of being related to apple pomace consumption by pregnant cows. Outbreaks occurred in the municipalities of Lages (Santa Catarina) between 2007 and 2012, and Ipê (Rio Grande do Sul) between 2011 and 2012. The calves showed bone deformity characterized by arthrogryposis mainly on anterior limbs and chondrodysplasia. At necropsy, lesions were characterized by curved and thick limbs and, in some cases, increased volume of skull bones. Microscopically, no significant lesions were observed. Experiments were conducted on two stages, firstly in 2015, between September and December, in which 16 pregnant Holstein cows were used. These were separated in 4 groups, distributed as follows: Group 0: control (5 cows); Group I: 1 month pregnant (4 cows); Group II: 3 months pregnant (4 cows); Group III: 6 months pregnant (3 cows). The second stage was carried out in April 2016 to February 2017. Twelve pregnant Holstein cows were divided into group 0: Control (6 cows), Group I: 1 month pregnant (3 cows), Group II: 3 months pregnant (3 cows). All animals were fed with apple pomace at a dose of 25 kg / day / cow. For the first experiment, one cow from group III gave birth to a heifer, with complete absence of the coccygeal and tail vertebrae, mild bending of hind limbs, scoliosis in thoracic spine and difficulty in locomotion. After 30 days of birth, it presented diarrhea and little development, being euthanized for necropsy. Macroscopic lesions showed malformations on thoracic spine, joints and genitourinary tract. For the second experiment, one cow from group I gave birth to a heifer with curved pelvic and thoracic limbs, in addition to thick joints and hooves flattening. Histologically, both heifers presented no injuries at epiphyseal cartilage of humerus, femur, ribs, vertebrae and bones of the base of the skull, as well as in genitourinary organs. Samples of apple pomace used in the experiment were frozen and sent for pesticides residual evaluation.

KEY WORDS: Apple pomace. Arthrogryposis. Chondrodysplasia. Calf.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Intoxicação natural por bagaço de maçã: bezerro com membros anteriores curtos e encurvados e articulações grossas.	26
Figura 2 - Intoxicação natural por bagaço de maçã: bezerro com membros curtos e articulações grossas.	26
Figura 3 - Intoxicação natural por bagaço de maçã: bezerro com cabeça desproporcional ao corpo e focinho curto. Membros anteriores e posteriores curvos e curtos e articulações grossas.	27
Figura 4 - Intoxicação natural por bagaço de maçã. Necropsia bezerro propriedade 2: A) ossos curvados. B) comprimento e espessura anormais (reduzidos)	28
Figura 5 - Bagaço de maçã no cocho	28
Figura 6 - Reprodução experimental, necropsia bezerra: A) Coluna vertebral com ausência completa das vértebras coccígeas. B) Membros posteriores encurvados e articulações grossas.	36
Figura 7 - Reprodução experimental, necropsia bezerro nº 1: Escoliose na coluna torácica.	36
Figura 8 - Reprodução experimental, necropsia bezerro nº 1: aparelho genitourinário. Desvio do ureter direito, estendia do rim ao colo do útero.	37
Figura 9 - Bezerra com membros pélvicos, curvos, engrossamento moderado das articulações.	37

SUMÁRIO

SUMÁRIO	13
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 BAGAÇO DE MAÇÃ.....	16
2.2 AGROTÓXICOS	16
2.3 ANOMALIAS CONGÊNITAS (MALFORMAÇÕES)	17
2.4 ENFERMIDADES QUE CAUSAM ARTROGRIPOSE E CONDRODISPLASIA EM BOVINOS	18
2.4.1 Doenças infecciosas	18
2.4.1.1 Diarreia Viral Bovina	18
2.4.1.2 Língua Azul.....	19
2.4.1.2 Vírus Akabane.....	19
2.4.2 Plantas que causam malformação congênita	20
2.4.2.1 Mimosa tenuiflora	20
2.4.2.2 Lupinus angustifolius	20
2.3.2.3 Veratrum californicum	20
2.3.2.4 Conium maculatum	21
2.3.2.5 Nicotiana glauca	21
3 OBJETIVOS	22
4 ARTIGO 1.....	23
5 ARTIGO 2.....	31
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

1 INTRODUÇÃO

O bagaço de maçã (*Malus spp*) é o principal subproduto gerado na agroindústria da maçã o qual é constituído de casca e bagaço (94,5%), sementes (4,4%), e miolo (1,1%) (KENNEDY et al., 1999) e é utilizado como fonte energética alternativa na alimentação de ruminantes, principalmente bovinos (MANTEROLLA et al., 1999).

O consumo desse subproduto por vacas durante a gestação pode estar associado ao nascimento de bezerros com membros curvos e curtos e alguns de tamanho reduzido em comparação com demais bezerros. Três surtos da enfermidade foram diagnosticados, dos quais, dois ocorreram no município de Lages, SC e um no município de Ipê, RS. As condições em que o bagaço de maçã pode produzir essas malformações são desconhecidas. Acredita-se que substâncias agrotóxicas utilizadas amplamente na cultura da maçã, possam permanecer de forma residual no bagaço, atuando como agente teratogênico.

O presente trabalho tem por objetivo relatar a ocorrência de três surtos de artrogripose e condrodisplasia em bezerros, descrever os fatores epidemiológicos e estudar sua etiopatogenia a partir da administração de bagaço de maçã para vacas prenhas em diferentes fases de gestação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 BAGAÇO DE MAÇÃ

O Brasil é um país de intensa atividade agrícola e um dos que mais produzem resíduos agroindustriais. O estado de Santa Catarina é o maior produtor de maçã do país, com mais de 1 milhão de toneladas anuais (INFORMATIVO DA SECRETARIA DE POLÍTICA AGRÍCOLA, 2013), sendo que 25% do total da maçã utilizada pelas indústrias de suco, bagaços e aromas constituem-se de bagaço. Esse bagaço é obtido a partir do esmagamento da fruta, com ou, sem inativação enzimática, e posterior extração das partes comestíveis através de equipamentos conhecidos como despulpadeiras, peneiras ou, refinadoras, com, ou, sem concentração posterior. O bagaço é um produto intermediário que serve como ingrediente para outros produtos derivados da maçã, como sucos, doces. (MACAGNAN, 2013). É constituído basicamente por suco remanescente com açúcares e outras substâncias solúveis, carboidratos insolúveis, pequena quantidade de proteína e minerais. Já o material insolúvel da maçã consiste de semente, talo, casca (epiderme), miolo e bagaço (KOŁODZIEJCZYK et al, 2007). Tradicionalmente o bagaço é destinado à alimentação do gado ou, simplesmente dispensado no solo, pois, apresenta um baixo valor comercial devido ao seu reduzido teor protéico (ZHENG; SHETTY., 1998).

2.2 AGROTÓXICOS

Para a produção da maçã a Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) lista mais de 60 diferentes tipos de agrotóxicos utilizados no controle de pragas. Os riscos à saúde humana ligados ao uso e à exposição aos agrotóxicos têm sido tema de grande interesse no âmbito da saúde pública. A exposição á agrotóxicos pelos animais geram efeitos nocivos à saúde. Muitos deles são suspeitos de atuarem como desreguladores do sistema endócrino. Alguns estudos com animais indicam que a exposição a substâncias químicas hormonalmente ativas, durante o período pré-natal ou, na idade adulta, aumenta a vulnerabilidade a tipos de câncer sensíveis aos hormônios, como tumores malignos na mama, próstata, ovários e útero (SANTA MARTA, 2001). Como exemplos, são citados os organofosforados e carbamatos, inseticidas inibidores da colinesterase, que entraram no mercado pela primeira vez em 1944. Os piretróides, os

organofosforados e os carbamatos são inseticidas lipofílicos amplamente utilizados no combate a pragas de animais e plantas. A exposição se dá pelos alimentos na forma de resíduos e ainda podem ser absorvidos pela pele e através da inalação. Suas características de solubilidade facilitam a excreção da substância pelo leite e a passagem pela barreira placentária, favorecendo a exposição ao pesticida no período perinatal. Assim, a exposição do neonato ao inseticida, em concentrações que não revelam sinais clínicos de intoxicação sistêmica materna, pode causar danos no indivíduo em desenvolvimento. Esses pesticidas têm como principais efeitos tóxicos agudos sinais muscarínicos e nicotínicos: sialorreia intensa, cefaleia, tontura, tremores, ataxia, fasciculações, fraqueza muscular, paralisia dos centros respiratório e circulatório (GRECCO et al., 2009; OLIVEIRA-FILHO et al., 2010).

Os inseticidas organoclorados induzem a um estado de hiperexcitabilidade do sistema nervoso central, com salivação, ataxia, hipersensibilidade, tremores musculares, movimentos de pedalagem, ranger dos dentes, convulsão, decúbito e morte (RIVERO et al., 2011). Armazenam-se em plantas e tecidos animais devido a sua característica de elevada lipossolubilidade e, conseqüentemente, capacidade de acúmulo no tecido adiposo (RADOSTITS et al., 2000).

Outro produto frequentemente usado nas macieiras é a abamectina, que também é usada como parasiticida em animais e quando, em doses superiores às indicadas pode produzir em bovinos, alterações neurológicas e morte (SEIXAS et al., 2006).

2.3 ANOMALIAS CONGÊNITAS (MALFORMAÇÕES)

Anomalias congênitas são alterações do desenvolvimento presentes ao nascimento. Apresentam distribuição mundial e podem causar danos reprodutivos, como aborto, retardo de crescimento intra-uterino e deficiências funcionais (PIMENTEL et al., 2007), constituindo importante causa de descarte de animais. Podem estar relacionadas a diversos fatores, dentre eles, doenças hereditárias ou fatores ambientais, podendo ser de natureza infecciosa, nutricional, por agressões físicas, administração ou ingestão acidental de agentes químicos e plantas tóxicas (SCHILD, 2007). Essas malformações congênitas, esporádicas e hereditárias afetam principalmente o sistema nervoso central (SNC) e músculo-esquelético (SCHILD, 2007), sendo descritas no Brasil em bovinos, búfalos, ovinos e caprinos (DANTAS et al., 2010; MARCOLONGO PEREIRA et al., 2010). Dentre as malformações mais frequentes descritas

no Brasil são citadas, artrogripose, condrodisplasias, hipoplasia cerebelar e hidrocefalia, anencefalia, dicefalia, hermafroditismo, malformações de vasos, atresia anal e palatosquise (DANTAS et al., 2010; MARCOLONGO-PEREIRA et al., 2010; BASSUINO et al., 2012).

2.4 ENFERMIDADES QUE CAUSAM ARTROGRIPOSE E CONDRODISPLASIA EM BOVINOS

2.4.1 Doenças infecciosas

2.4.1.1 *Diarreia Viral Bovina*

O vírus da diarreia viral bovina (BVDV) é um dos patógenos mais importantes de bovinos, responsável por grandes perdas econômicas para a pecuária bovina em todo mundo. Além de infecções subclínicas, o BVDV pode causar sinais clínicos respiratórios, digestivos, reprodutivos, doença das mucosas (DM), síndrome hemorrágica (SH) e imunodepressão (CHAVES et al., 2010). O BVDV pertence a família Flaviridae, gênero pestivirus, são vírus pequenos (40-60 nm), envelopados e contêm como genoma uma molécula de RNA, fita simples, de polaridade positiva (FLORES; SCHUCH, 2007).

O BVDV é altamente infeccioso, acomete bovinos, suínos, ovinos, caprinos ou ruminantes de vida livre ou, de cativeiro (QUINCOZES et al., 2007). A principal fonte de infecção para outros animais são os animais persistentemente infectados (PI). Estes podem ser gerados quando fêmeas prenhas são infectadas entre os dias 40 e 120 de gestação e a infecção fetal resulta na produção de bezerros imunotolerantes (FLORES; SCHUCH, 2007). A doença pode ser encontrada em qualquer tipo de rebanho, independentemente de raça, manejo e produção (SAMARA et al., 2004). Em geral os bovinos jovens são mais suscetíveis a infecção pelo BVDV, mas bovinos adultos podem desenvolver doença clínica se infectados com genótipos altamente virulentos do vírus (RADOSTITS et al., 2000). A patogenia depende de fatores interativos múltiplos envolvendo as fases intra-uterina e pós-natal e de fatores imunológicos do hospedeiro (RADOSTITS et al., 2000). A infecção aguda em animais prenhes, pode ter como consequência a ocorrência de malformações fetais que ocorre entre 100-150 dias de gestação. As malformações principais podem ser ocorrer no sistema nervoso central (hipoplasia cerebelar, microcefalia, hidranecenia, mielinização deficiente na medula espinhal) e nos olhos (atrofia ou displasia da retina, catarata, microftalmia), podendo observar-se, ainda aplasia tímica, bragmatismo, retardo de crescimento e artrogripose (FLORES; SCHUCH, 2007). Os achados de necropsia e histopatologia variam de acordo com o curso e

evolução da doença (RADOSTITS et al., 2000). O diagnóstico de infecção do BVDV pode ser feito pelo isolamento viral, Elisa, além, de métodos de diagnósticos alternativos como, imunoistoquímica, PCR e sorologia (SAMARA et al., 2004; FLORES et al., 2005; QUINCOZES et al., 2007; CHAVES et al., 2010).

2.4.1.2 Língua Azul

Língua azul é causada por um Orbivirus da família *Reoviridae* que possui 24 sorotipos enumerados de 1 a 24 e é transmitido por mosquitos do gênero *Culicoides*. A enfermidade afeta ovinos, bovinos e diversas espécies de ruminantes selvagens, sendo os ovinos e o veado de cauda branca os mais susceptíveis (RIET-CORREA, 2007). Em bovinos, a sintomatologia pode se manifestar como aborto, teratogenia, febre, lesões ulcerativas na mucosa da língua, lábios, palato dental e focinho, claudicação ou até mesmo passar como uma infecção inaparente (RADOSTITS et al., 1994). A doença clínica ocorre com maior frequência em ovinos caracterizando-se por febre, corrimento nasal muco-purulento ou, sanguinolento, lesões erosivas e ulcerativas nas mucosas do trato digestivo, além de alterações reprodutivas como morte embrionária, aborto e malformações fetais (ANTONIASSI et al., 2010). Em bovinos e caprinos, são considerados reservatórios para o vírus, e na maioria das vezes, a enfermidade tem caráter subclínico (RIET-CORREA, 2007).

2.4.1.2 Vírus Akabane

Vírus Akabane é causada por um arbovírus, do gênero *Orthobunyavirus* da família Bunyaviridae, transmitido por artrópodes. Casos clínicos foram observados em bovinos, ovinos e caprinos. A doença é caracterizada por abortos, natimortos, prematuros e defeitos congênitos (artrogripose). O diagnóstico é feito por sorologia de amostras de soro de fluídos corporais. Não existe tratamento para os animais afetados. Para prevenção de perdas fetais, vacinas estão disponíveis em alguns países, no entanto, há relatos de diferenças antigênicas entre as cepas de vacina e o vírus (THE CENTER FOR FOOD SECURITY E PUBLIC HEALTH, 2016).

2.4.2 Plantas que causam malformação congênita

2.4.2.1 *Mimosa tenuiflora*

Mimosa tenuiflora é uma das plantas mais comuns na região semiárida do Nordeste, nas áreas de caatinga e causa malformações congênitas. Pertence a família Leg. Mimosoideae e conhecida pelo nome popular de “jurema preta” (TOKARNIA et al., 2012). São afetados ovinos, caprinos e menos frequente em bovinos (PIMENTEL et al., 2007; DANTAS et al., 2010). Cordeiros, cabritos e bezerros nascem com diversas malformações ósseas: flexão dos membros torácicos (artrogripose) que também podem estar encurtados ou torcidos, malformação dos ossos da cabeça e face, incluindo micrognatia, fendas palatinas e malformações da coluna vertebral (RIET-CORREA; MÉNDEZ, 2007).

2.4.2.2 *Lupinus angustifolius*

Lupinus são leguminosas anuais, dependendo da variedade as flores podem ser amarelas, brancas ou azuis. Na África do Sul são encontradas apenas como plantas cultivadas. Três distintas doenças são associadas ao consumo dessa planta: a) lupinosis que é uma micotoxicose causada pelo fungo *Phomopsis leptostromiformis* responsável por causar danos no fígado de animais; b) intoxicação provocada pelos alcaloides que levam a danos no sistema nervoso em bovinos; c) Síndrome de bezerros tortos caracterizada por artrogripose, torcicolos e escoliose que ocorre especialmente em vacas que ingeriram Lupinus entre 40-70 dias de gestação (KELLERMAN et al., 1990).

2.3.2.3 *Veratrum californicum*

Veratrum californicum pertence à família dos lírios (Lileaceae), são nativas da América do Norte, atingem entre 1 e 1,25 m de altura. Seus nomes comuns são couve-fétida, helíboro-ocidental, e milho selvagem. São fontes de diversos alcaloides, entre eles, encontram-se a veratridina, protoveratrina, veratrina, cevadina e jirvina. Malformações congênitas em ovinos, caracterizada por holoprosencefalia e ausência da hipófise, resultam do consumo da planta por ovinos em gestação (ZACHARY; MCGAVIN, 2013). Quando a planta e certos alcaloides são

fornecidos a ovinos nos dias 13 e 14 de gestação, ocorre ciclopia parcial ou completa. A exposição nos dias 17 e 18 resultam em paralisia dos nervos motores, enquanto múltiplas anomalias se seguiram á exposição desde os dias 12 até 30: fenda palatina, lábio leporino, braquignatia, sindactilismo, diminuição do comprimento e diâmetro de todos os ossos, ou encurtamento somente dos metacarpianos e metatarsianos, e decréscimo no número de vértebras coccígeas (JONES et al., 2000).

2.3.2.4 *Conium maculatum*

Conium maculatum L. planta herbácea pertencente à família Umbelliferae, tem o nome popular de “cicuta” (TOKARNIA et al., 2012). Ovinos, bovinos, suínos, equinos e outros animais domésticos são sensíveis a intoxicação pela ingestão de pequenas quantidades da planta verde ou seca. Também é extremamente venenosa para os seres humanos. Todas as partes da planta são tóxicas (folhas, caule, frutos e raízes), sendo, pouco palatável (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE). Em bovinos os sinais envolvem lacrimejamento, salivação, dispneia, e diarreia fétida ou, hemorrágica, além de teratogenicidade, (TOKARNIA et al., 1985). Dessa planta foram identificados cinco alcaloides, dois deles, a coniína (2-propilpiperidina) e γ -coniceína (δ 1-2 propilpiperidina), são os mais significativamente tóxicos e teratogênicos para os animais. Quando fornecido a vacas durante os dias suscetíveis da gestação (dias 40 a 70), resultaram em artrogripose nos bezerros neonatos (JONES et al., 2000).

2.3.2.5 *Nicotiana glauca*

Nicotiana glauca é altamente tóxica e ocorre amplamente na África do Sul. O principal princípio tóxico é o alcaloide anabasine, intimamente relacionado com a nicotina, o qual é responsável por sinais de toxicidade aguda e teratologia em ovinos, bovinos e suínos. Os sinais clínicos incluem, salivação, andar irregular, cambaleante, tremores, convulsões e dispneia. A morte pode ocorrer por paralisia respiratória. Os defeitos teratogênicos incluem: flexão excessiva do carpo, fenda palatina e deformidades da cabeça (KELLERMAN et al., 1990).

3 OBJETIVOS

Geral

Descrever surtos de artrogripose e condrodysplasia em bezerros oriundos de vacas alimentadas com bagaço de maçã durante a gestação.

Reproduzir experimentalmente a enfermidade em bezerros através do uso do bagaço de maçã na alimentação de vacas prenhas.

Específico

- Avaliar o grau de contaminação por agrotóxicos no bagaço e sua possível relação, ou, não com a enfermidade.

4 ARTIGO 1

Artrogripose e condrodisplasia em bovinos e sua relação com bagaço de maçã na alimentação de vacas prenhas

RESUMO.- Descrevem-se 3 surtos de bezerros com artrogripose e condrodisplasia, nascidos de vacas prenhas alimentadas com bagaço de maçã. Estudos foram realizados a partir de levantamento de históricos em propriedades onde bagaço de maçã foi utilizado na alimentação de bovinos. Os surtos ocorreram nos municípios de Lages (Santa Catarina) entre os anos de 2007 e 2012, e Ipê (Rio Grande do Sul), entre os anos de 2011 e 2012. Dentre 20 à 69,2% dos bezerros apresentavam deformidade óssea caracterizada por artrogripose principalmente dos membros anteriores e condrodisplasia. Na necropsia as alterações observadas restringiam-se ao encurvamento e engrossamento dos membros e do crânio. Microscopicamente não foram observadas lesões significativas.

Palavras-chave: Artrogripose. Condrodisplasia. Bezerro. bagaço de maçã.

Described Three calf outbreaks with arthrogryposis and chondrodysplasia are described from cows fed apple pulp e throughout pregnancy. Studies were carried out from historical surveys on properties where apple pomace was used in cattle feeding. The outbreaks occurred in the cities of Lages, highlands of the State of Santa Catarina between 2007 and 2012, and in the city of Ipê, Rio Grande do Sul State, between the years of 2011 and 2012 These calves presented deformity bone characterized by arthrogryposis mainly of the anterior limbs and chondrodysplasia. At necropsy, the observed changes were restricted to bending and thickening of the anterior limbs. Microscopically no lesions were observed.

Keywords: Arthrogryposis. Chondrodysplasia. Calf. apple pulp.

INTRODUÇÃO

O bagaço de maçã é o principal subproduto gerado na agroindústria da maçã (*Malus spp*) o qual é constituído de casca e bagaço (94,5%), sementes (4,4%), e miolo (1,1%) (KENNEDY et al 1999) e é utilizado como fonte energética alternativa na alimentação de ruminantes, principalmente bovinos (Manterolla et al. 1999).

O consumo desse subproduto por vacas durante a gestação pode estar associado ao nascimento de bezerros com membros curvos, curtos e rígidos. Três surtos da enfermidade foram diagnosticados, dos quais, dois ocorreram no município de Lages, SC e um no município de Ipê, RS. As condições em que o bagaço de maçã pode produzir essas malformações são desconhecidas. Acredita-se que substâncias agrotóxicas utilizadas amplamente na cultura da maçã, possam permanecer de forma residual no bagaço, atuando como agente teratogênico.

O presente trabalho tem por objetivo relatar a ocorrência de três surtos de artrogripose e condrodysplasia em bezerros nascidos de vacas alimentadas com bagaço de maçã e descrever os fatores epidemiológicos, clínicos e patológicos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Levantamento de históricos sobre a ocorrência de malformações grave no desenvolvimento em bezerros nascidos de vacas alimentadas com bagaço de maçã, foi efetuado nos municípios de Lages, (Planalto Catarinense) e Ipê (Planalto Gaúcho). Três bezerros com deformações graves foram necropsiados e amostras de tecidos de sistema nervoso central, coração, pulmão, rim, fígado, baço, rúmen, retículo, omaso, abomaso, intestino, musculoesquelético e osso foram colhidas e fixadas em formalina a 10%, para exame histológico. O material foi processado rotineiramente, corado pela técnica de Hematoxilina-Eosina (HE) (Prophet et al. 1992) e avaliado em microscópio óptico.

RESULTADOS

Os surtos ocorreram em três propriedades, duas localizadas no município de Lages, SC (Propriedade 1 e Propriedade 2) e uma no município de Ipê, RS (Propriedade 3). As principais alterações observadas nos bezerros foram semelhantes nas três propriedades. Caracterizavam-se por membros curtos e encurvados com articulações grossas principalmente, os anteriores (Figura 1), ou, membros curtos e articulações grossas (Figura 2) e em alguns bezerros a cabeça era desproporcional ao corpo, com focinho curto (Figura 3). Essas alterações eram leves em conseguiam se movimentar e geralmente, morriam nos primeiros dias do nascimento e ou,

foram eutanasiados. Aqueles que nasceram com lesões menos graves, após alguns meses, o encurvamento dos ossos desapareceu, porém, apresentaram crescimento reduzido (condrodisplasia). Nos três surtos as vacas eram de aptidão de corte, sendo, vacas mestiças x touro charolês na propriedade 1; Vacas mestiças x touro Limousin na propriedade 2; e vacas e touro Red angus na Propriedade 3. Nas três propriedades as vacas eram mantidas em área de pasto nativo e suplementadas com bagaço de maçã, na quantidade de 20 a 30 kg/vaca/dia.

Na propriedade 1, o bagaço de maçã começou a ser utilizado na alimentação das vacas em 2007 e segundo o proprietário, desde que começou a utiliza-lo para um plantel de 30 vacas, 15% a 20% dos bezerros nascidos anualmente eram portadores das malformações. Em 2012, nasceram 19 bezerros com o problema e destes 5 morreram e um foi necropsiado.

Na propriedade 2, o bagaço de maçã foi administrado para 6 vacas durante todo o período gestacional. Destas, nasceram 6 bezerros dos quais, 3 tinham as deformações ósseas graves. Dois destes bezerros morreram e um foi eutanasiado para necropsia. Os achados de necropsia foram restritos ao sistema ósseo, que apresentou ossos com comprimento e diâmetro aumentados e curvados (Figura 4A e 4B)

Na propriedade 3, no ano de 2011, de 13 vacas que receberam bagaço de maçã durante a gestação, nasceram 9 bezerros com as deformações sendo que 5 nasceram mortos. No ano de 2012, de 17 vacas, nasceram 9 bezerros com as deformidades. Na mesma propriedade, um segundo lote de vacas que não recebeu bagaço de maçã na dieta, mas foram mantidas em área próxima, tiveram bezerros normais.

Segundo relato obtido nas três propriedades, a enfermidade surgiu após a introdução do bagaço de maçã na alimentação. O bagaço era armazenado em silo, e após fermentar por uma semana era fornecido aos bovinos no cocho (Figura 5) em doses gradativas até chegar aos 30kg/animal. Ainda segundo informações na tentativa de solucionar o problema nas propriedades 1 e 3, houve troca de touro na cobertura das vacas, mas o problema continuou.

Figura 1- Intoxicação natural por bagaço de maçã: bezerro com membros anteriores curtos e encurvados e articulações grossas.



Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

Figura 2 - Intoxicação natural por bagaço de maçã: bezerro com membros curtos e articulações grossas.



Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

Figura 3 - Intoxicação natural por bagaço de maçã: bezerro com cabeça desproporcional ao corpo e focinho curto. Membros anteriores e posteriores curvos e curtos e articulações grossas.



Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

Figura 4 - Intoxicação natural por bagaço de maçã. Necropsia bezerro propriedade 2: A) ossos curvados. B) comprimento e espessura anormais (reduzidos)



Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

Figura 5 - Bagaço de maçã no cocho



Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

DISCUSSÃO

O diagnóstico de artrogripose e condrodisplasia em bezerros associado ao consumo de bagaço de maçã por vacas prenhas baseou-se na epidemiologia, nos achados clínicos e macroscópicos. No presente estudo após a introdução do bagaço de maçã na alimentação, a maioria das vacas pariram bezerros com malformações. Nessas propriedades as vacas recebiam no cocho quantidade diária de 25 a 30 kg/ bagaço de maçã/dia. Acredita-se que a ingestão dessa quantidade ou mais, por um período superior a 3 meses pode causar a síndrome. Cabe ainda mencionar que não ocorriam abortos e que vacas que não receberam bagaço na dieta, mas eram mantidas em áreas próximas pariram bezerros normais. Também foi constatado que nas propriedades 1 e 3, a enfermidade ocorreu por 5 e 2 anos sucessivos, respectivamente. Nas três propriedades a utilização do bagaço de maçã foi suspensa, e nos dois anos seguintes a enfermidade não ocorreu. Para cobertura das vacas, houve troca por touros de linhagens diferentes, mas o problema persistiu. Essas informações reforçam a suspeita de ser o bagaço de maçã responsável por essa enfermidade.

Na literatura não há relatos sobre o aparecimento de malformações relacionadas ao consumo de bagaço de maçã. Supõem-se que essas malformações estejam relacionadas a agrotóxicos de uso frequente na cultura da maçã os quais podem permanecer de forma residual no bagaço. Para o combate de pragas na cultura da maçã a Agência nacional de vigilância Sanitária (Anvisa), cita mais de 60 diferentes tipos de agrotóxicos. Grecco et al. (2009) e Oliveira-Filho et al. (2010), citam as intoxicações por organofosforados e carbamatos, que são inibidores da colinesterase e são inseticidas lipofílicos amplamente utilizados no combate a pragas de animais e plantas. A exposição se dá pelos alimentos na forma de resíduos e ainda podem ser absorvidos pela pele e através da inalação. Suas características de solubilidade facilitam sua excreção pelo leite e passagem pela barreira placentária, favorecendo a exposição no período perinatal. A exposição do neonato a esses inseticidas, em concentrações que não revelam sinais clínicos de intoxicação sistêmica materna, podem causar danos no indivíduo em desenvolvimento. Outro produto frequentemente usado nas macieiras é a abamectina. Esta também é usada como parasiticida em animais e quando, em doses superiores às indicadas, segundo Seixas et al. (2006), pode produzir em bovinos, alterações neurológicas e morte.

Nos surtos do presente estudo, os bezerros nasceram com artrogripose e condrodisplasia. Na maioria das vezes, casos de artrogripose são esporádicos e de difícil determinação da causa. Podem ter origem hereditária, transmitida por gene autossômico e recessivo em bovinos da raça holandesa (MARCOLONGO PEREIRA et al., 2010), ou, associada a agentes infecciosos, como

o vírus da língua Azul (RIET-CORREA, 2007), vírus da doença da fronteira (Border Disease), vírus da Febre do vale do Cache (RADOSTITS et al., 2000), BVDV (PAVARINI et al., 2008) e pelo vírus Akabane (KONNO; NAKAGAWA, 1982). Estas enfermidades podem ser descartadas no presente estudo, uma vez que, as vacas prenhas que estavam nas mesmas propriedades pariram bezerros normais.

Defeitos congênitos também podem ocorrer associados ao consumo de plantas como *Mimosa tenuiflora* no Nordeste do Brasil, que leva a malformações de face (bragnatia, fenda labial e palatina, opacidade de córnea, artrogripose, escoliose e lordose (DANTAS et. Al., 2010), vacas que ingerem *Lupinus* sp., *Nicotiana glauca* e *Nicotiana tabacum*, com sinais de torcicolo, artrogripose, escoliose e flexão excessiva do carpo, lordose, fenda palatina e deformidade da cabeça, respectivamente (KELLERMAN et al., 1990), *Veratrum californicum* em ovinos, causa ciclopia, holoprosencefalia e ausência de hipófise (ZACHARY; MCGAVIN, 2013), *Conium maculatum*, que causa dentre outros sinais clínicos, artrogripose (TOKARNIA et al., 1985; TOKARNIA et al., 2012). Nenhuma dessas plantas foram encontradas nas propriedades, onde ocorreram os surtos estudados.

CONCLUSÃO

Bagaço de maçã fornecido em grandes quantidades para vacas prenhas pode levar ao nascimento de bezerros com artrogripose e condrodisplasia. Bezerros que nascem com sinais de artrogripose e condrodisplasia de leve a moderada, ocasionados pela ingestão de bagaço de maçã, podem recuperar-se parcialmente, porém, tem crescimento reduzido.

5 ARTIGO 2

AVALIAÇÃO EXPERIMENTAL COM BAGAÇO DE MAÇÃ NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS PRENHAS E SUA RELAÇÃO COM ANÔMALIAS CONGÊNTAS EM BEZERROS

RESUMO

O presente trabalho tem por finalidade descrever e discutir os resultados do experimento realizado em vacas prenhas que foram alimentadas com 25 kg/ dia/ de bagaço de maçã. Experimentos foram conduzidos em duas etapas, a primeira no ano de 2015, entre os meses de setembro-dezembro onde foram utilizadas 16 vacas prenhas da raça holandês. Estas foram divididas em 4 grupos, assim distribuídos: Grupo 0: controle (5 vacas); Grupo I: gestação 1 mês (4 vacas); Grupo II: gestação 3 meses (4 vacas); Grupo III: Gestação 6 meses (3 vacas). A segunda etapa foi realizada em abril de 2016 a fevereiro de 2017. Foram utilizadas 12 vacas prenhas da raça holandês, divididas em grupo 0: Controle (6 vacas), Grupo I: gestação 1 mês (3 vacas), Grupo II: gestação 3 meses (3 vacas). Todas receberam bagaço de maçã na dose de 25 kg/dia/vaca. Para o primeiro experimento, uma vaca do grupo III pariu uma bezerra, com ausência completa das vértebras coccígeas e cauda, encurvamento leve dos membros posteriores, escoliose na coluna torácica e dificuldade de locomoção. Decorridos 30 dias do nascimento, manifestou diarreia e pouco desenvolvimento, sendo eutanasiada para necropsia. Na macroscopia, havia malformações na coluna torácica, articulações e no aparelho genitourinário. Em relação ao segundo experimento uma vaca do grupo I pariu uma bezerra com membros pélvicos e torácicos, curvos e com articulações grossas e “achinelamento” de cascos. Amostras do bagaço de maçã utilizado na experimentação foram congeladas e enviadas para avaliação residual de agrotóxicos.

Palavras chave: bagaço de maçã. Bezerro. Artrogripose. condrodisplasia.

ABSTRACT

The present work aims to describe and discuss the results of the experiment carried out on pregnant cows fed 25 kg / day / apple bagasse. Experiments were conducted in two stages, the first in the year 2015, between the months of September and December where 16 pregnant cows of the Dutch breed were used. These were divided into 4 groups, distributed as follows: Group 0: control (5 cows); Group I: gestation 1 month (4 cows); Group II: gestation 3 months (4 cows); Group III: Gestation 6 months (3 cows). The second stage was carried out in April 2016 to February 2017. Twelve pregnant cows of the Dutch breed were divided into group 0: Control (6 cows), Group I: 1 month gestation (3 cows), Group II: gestation 3 months (3 cows). All received apple bagasse at a dose of 25 kg / day / cow. For the first experiment, a group III cow gave birth to a heifer, with complete absence of the coccygeal and tail vertebrae, slight bending of the hind limbs, scoliosis in the thoracic spine and difficulty in locomotion. After 30 days of birth, she had diarrhea and little development, being euthanized for necropsy. At macroscopy, there were malformations in the thoracic spine, joints and in the genitourinary tract. In relation to the second experiment, a cow from group I gave birth to a heifer with pelvic and thoracic limbs, curved and with thick joints and "achinelamento" of hooves. Samples of the apple cake used in the experiment were frozen and sent for residual evaluation of pesticides.

Keywords: Apple bagasse. Calf. Arthrogryposis. Chondrodysplasia.

INTRODUÇÃO

A maçã é uma fruta de grande importância econômica na Região Sul do país, que corresponde a 98% da produção nacional. Seu processamento gera o resíduo conhecido como bagaço da maçã, que equivale a 25% do peso da fruta. O bagaço de maçã possui 18% de matéria seca (MS); 6,5% de proteína bruta (PB); 42% de fibra em detergente neutro (FDN); 3,2% de extrato etéreo (EE); 4,2% de matéria mineral (MM) e 62,4% de nutrientes digestíveis totais (NDT). Este subproduto caracteriza-se por possuir baixo teor de matéria seca (MS) e de proteína bruta (PB), porém, apresenta teor médio de fibra em detergente neutro (FDN), com indicativos de boa qualidade desta fibra. O bagaço da maçã pode ser uma alternativa energética para a alimentação ruminantes (RIBEIRA FILHO et al., 2012). O uso do bagaço de maçã tem gerado suspeitas de causar artrogripose e condrodisplasia em bezerros nascidos de vacas alimentadas com este subproduto durante o período gestacional.

O objetivo desse estudo foi reproduzir experimentalmente a enfermidade em bezerros pelo uso de bagaço de maçã na alimentação de vacas prenhas.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Setor de Bovinocultura de leite, do Centro de Ciências Agroveterinárias – Lages, SC entre os anos de 2015 – 2017, e foram divididos em duas etapas: a primeira no ano de 2015, entre os meses de setembro-dezembro sendo utilizadas 16 vacas prenhas da raça holandês, divididas em 4 grupos, assim distribuídos: Grupo 0: controle (5 vacas, com gestação entre 1 a 6 meses); Grupo I: gestação 1 mês (4 vacas); Grupo II: gestação 3 meses (4 vacas); Grupo III: Gestação 6 meses (3 vacas). A segunda etapa foi realizada abril de 2016 a fevereiro de 2017. Foram utilizadas 12 vacas prenhas da raça holandês, divididas em 3 grupos, sendo grupo 0: Controle (6 vacas), Grupo I: gestação 1 mês (3 vacas), Grupo II: gestação 3 meses (3 vacas). Em ambos experimentos, para cada grupo, exceto grupo controle, foi oferecido bagaço de maçã (estocada na forma de silo) na dose de 25/kg/vaca/dia e pasto constituído por *Trifolium repens* (trevo branco) e *Pennisetum clandestinum* (quicuío). O bagaço era proveniente da região do Planalto Catarinense. No primeiro experimento foi fornecido bagaço durante três meses. No segundo experimento, as vacas do grupo I, receberam bagaço durante 8 meses e as vacas do grupo II todo o período de 6 meses. Todas as vacas de ambos experimentos foram utilizadas apenas após gestação comprovada através de toque retal e ultrassom. Dois bezerros nascidos com malformação, um proveniente do primeiro experimento e o outro do segundo, foram necropsiados e coletado fragmentos de coração, pulmão, fígado, rim, rúmen, omaso, abomaso, intestino, baço, linfonodo, músculo esquelético, sistema locomotor e sistema nervoso central para exame histológico. As amostras foram fixadas em formalina a 10%, desidratadas em álcool, clarificadas em xilol e incluídas em parafina. Secções de três micras de espessura foram coradas pela técnica de hematoxilina e eosina (HE) (PROPHET et al., 1992) e examinadas em microscópio óptico de luz.

Amostras de bagaço utilizadas nos experimentos foram condicionadas em sacos plásticos e submetidas a análise qualitativa e quantitativa para agrotóxicos comumente utilizados na cultura da maçã, e enviadas para o Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP), da Universidade Federal de Santa Maria, onde o método utilizado para determinação dos resíduos de agrotóxicos foi o QuEChERS modificado e análise por LC-MS/MS, procedimento POP 102 rev.08. Os compostos analisados e especificações dos limites do método, estão descritos na tabela 1.

RESULTADOS

Das 16 vacas do primeiro experimento, todas pariram bezerros normais, exceto uma do grupo III que pariu uma bezerra com ausência completa das vértebras coccígeas e cauda (Figura 6A) encurvamento leve dos membros posteriores (Figura 6B) e escoliose na coluna torácica (Figura 7) e dificuldade de locomoção. Decorridos 30 dias do nascimento, manifestou diarreia e pouco desenvolvimento, sendo eutanasiada para necropsia. Havia desvio lateral da coluna torácica e engrossamento das articulações condrais. No aparelho genitourinário, havia desvio do ureter direito, o qual tinha fundo cego e se estendia do rim ao colo do útero (Figura 8) O útero era composto pelo cólon e corno direito com ovário. O corno esquerdo estava separado do útero, à esquerda, e ligado ao colo da bexiga por um apêndice.

Em relação ao segundo experimento, 8 vacas pariram bezerros normais e uma vaca do grupo I pariu uma bezerra com membros pélvicos e torácicos, curvos, engrossamento moderado das articulações e “achinelamento” de cascos, o que dificultava a locomoção e o equilíbrio (Figura 9). Na histologia de ambas bezerras, não foram observadas lesões na cartilagem epifisária do úmero, fêmur, costelas, vértebras e ossos da base do crânio, assim como nos órgãos do aparelho genitourinário.

O resultado da análise para produtos químicos do bagaço de maçã (Anexo 1) foi positivo para o fungicida Carbendazim, do grupo químico benzonidazol.

Figura 6 - Reprodução experimental, necropsia bezerra: A) Coluna vertebral com ausência completa das vértebras coccígeas. B) Membros posteriores encurvados e articulações grossas.



Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

Figura 7 - Reprodução experimental, necropsia bezerro n° 1: Escoliose na coluna torácica.



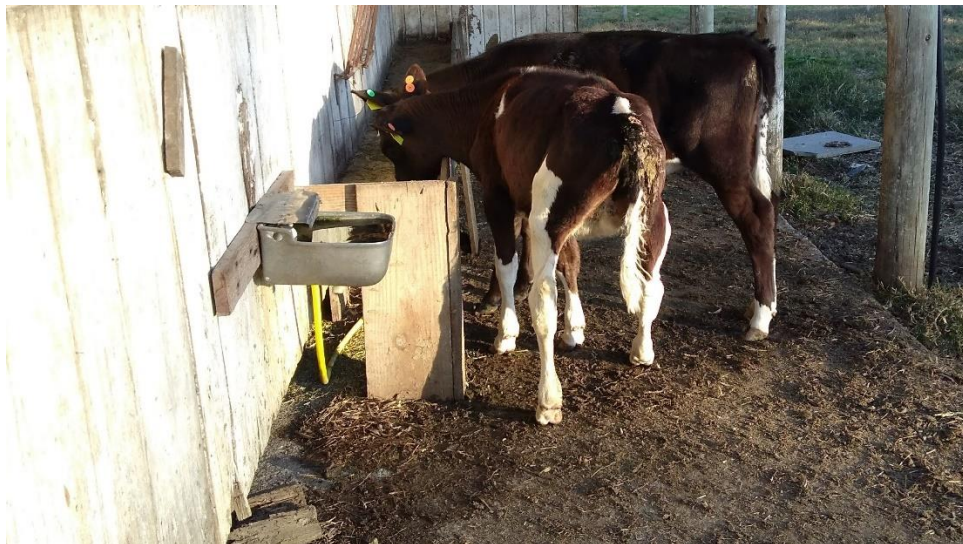
Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

Figura 8 - Reprodução experimental, necropsia bezerro nº 1: aparelho genitourinário. Desvio do ureter direito, estendia do rim ao colo do útero.



Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

Figura 9 - Bezerra com membros pélvicos, curvos, engrossamento moderado das articulações.



Fonte: Elaborado pela autora, 2018.

DISCUSSÃO

Experimentalmente, a ingestão de bagaço de maçã por vacas prenhas, na dose de 25 kg/dia, entre 3 a 8 meses, respectivamente, produziu malformações em dois bezerros, caracterizadas principalmente por encurvamento dos membros, principalmente dos posteriores e, em um dos bezerros desvio lateral da coluna torácica, ausência das vertebrae coccígeas e malformação do aparelho genito-urinário e reprodutivo. O encurvamento dos membros foi semelhante, porém menos grave do que o observado nos bezerros nascidos de vacas alimentadas com bagaço de maçã nos casos de intoxicação natural. Convém salientar que, nos casos observados na intoxicação natural o bagaço de maçã tinha origem desconhecida e oriunda de diferentes regiões de Santa Catarina e Rio Grande do Sul. O bagaço de maçã utilizada no presente estudo tinha origem de uma indústria de extração de sucos de maçã e, segundo informações obtidas posteriormente, os critérios na utilização de produtos químicos eram muito rigorosos.

Para avaliação de malformações em bezerros suspeitas de estarem relacionados a ingestão de bagaço de maçã por vacas prenhas é importante considerar a quantidade de bagaço ingerida, uma vez que, nos casos naturais a artrogripose e condrodisplasia só foram observadas em propriedades nas quais os animais ingeriram quantidades superiores a 20kg bagaço/vaca/dia, por longo período.

É preciso fazer diagnóstico diferencial de outras etiologias que causam malformações ósseas. No Nordeste do Brasil, a ingestão de “jurema preta” (*Mimosa tenuiflora*), produz anomalias ósseas craniofaciais, malformações oculares e artrogripose (PIMENTEL et al., 2007; MEDEIROS et al., 2008; SANTOS et al., 2012). As intoxicações por *Lupinus angustifolius*, *Veratrum californicum*, *Nicotiana glauca* (KELLERMAN et al., 1990) e *Conium maculatum* (TOKARNIA et al., 1985) afetam não só bovinos experimentalmente, mas também ovinos, suínos e caprinos, que além de produzirem malformações, também causam sinais de salivação, andar irregular, cambaleante, tremores, convulsões e dispneia. Dessas, a única planta encontrada na região sul é a *Conium maculatum* (cicuta), porém, em nenhuma das propriedades onde ocorreu a doença foi encontrada a planta.

Malformações em bovinos são causadas também pelo vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) (FLORES; SCHUCH, 2007; QUINCOZES et al., 2007) e vírus da Língua Azul (RIET-CORREA., 2007; ANTONIASSI et al., 2010). Estes autores descrevem que estes

patógenos são altamente infecciosos, que também acometem ovinos, caprinos e ruminantes de vida livre, além de causarem lesões erosivas e ulcerativas nas mucosas, sinais respiratórios caracterizados por febre, corrimento nasal muco-purulento ou, sanguinolento, morte embrionária e abortos. Esses sinais clínicos não foram observados nas vacas onde ocorreu a doença espontânea e nas vacas utilizadas no experimento.

Vários fatores podem estar envolvidos na patogenia da artrogripose e condrodisplasia observada em bezerros nascidos de vacas alimentadas com bagaço de maçã. O presente estudo foi conduzido baseando-se na hipótese da associação de agrotóxicos presentes de forma residual no bagaço, uma vez que, para a cultura da maçã (ANVISA 2017) mais de 60 diferentes tipos de agrotóxicos utilizados no controle de pragas, e estes podem concentrar-se no bagaço de forma residual. Como exemplos, são citados organofosforados e carbamatos (OLIVEIRA-FILHO et al., 2010) piretroides (FENSTER et al., 2006; WOLANSKY; HARRILL, 2008.) e abamectina (SEIXAS et al., 2006). Estes autores relatam que a exposição do feto a esses inseticidas, podem causar danos no indivíduo em desenvolvimento. Nas análises feitas no bagaço de maçã utilizado nesse experimento, foi detectado apenas resíduos de Carbendazin. Segundo as especificações da ANVISA e da U.S. Environmental Protection Agency (EPA), o Carbendazin é um fungicida de classe toxicológica III, considerado de toxicidade média. Experimentos conduzidos por Silva et al. (2014) em cobaias, comprovam o potencial mutagênico e/ou carcinogênico do Carbendazin. De acordo com estes autores, este composto pode provocar alterações cromossômicas com anomalias do número de cromossomos nas células, trazendo danos à molécula do DNA (efeitos mutagênicos) afetando o desenvolvimento embrionário ou fetal (efeitos teratogênicos/embriotoxicidade).

CONCLUSÃO

Experimentalmente, bagaço de maçã fornecido a vacas prenhas, na dose de 25kg/vaca/dia, durante longos períodos produziu malformações em bezerros, caracterizadas por deformações ósseas e genitourinária.

No bagaço de maçã, o Carbendazin permanece de forma residual, porém, sua relação com artrogripose e condrodisplasia precisa ser amplamente estudada.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As informações apresentadas neste estudo demonstram que o bagaço de maçã fornecido em grandes quantidades para vacas prenhas pode levar ao nascimento de bezerros com artrogripose e condrodisplasia. Experimentalmente, bagaço de maçã fornecido a vacas prenhas, na dose de 25kg/vaca/dia, durante longos períodos produziu malformações em bezerros, caracterizadas por deformações ósseas e genitourinária.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos – PARA. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/0/Relat%C3%B3rio+PARA+2013-2015+VERS%C3%83O-FINAL.pdf/494cd7c5-5408-4e6a-b0e5-5098cbf759f8>. acessada em novembro 2017.

ANTONIASSI, N.A.B.; PAVARINI, S.P.; RIBEIRO, L.A.O.; SILVA, M.S.; FLORES, E.F.; DRIEMEIER, D. Caracterização patológica e imunohistoquímica da infecção pelo vírus da diarreia viral bovina. **Pesquisa veterinária Brasileira**. v. 30, n. 12, p. 1010-1016, 2010.

BASSUINO, D.M.; WURSTER, F.; JUFFO, G.D.; BOOS, G.S.; SANTOS, A.D.; ANTONIASSI, N.A.B.; DRIEMEIER, D. Malformações congênitas multissistêmicas em um feto bovino abortado. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 40, n. 3, p.1-6, 2012.

CHAVES, N.P.; BEZERRA, D.C.; SOUZA, V.E.; SANTOS, H.P.; PEREIRA, H.M. Frequência de anticorpos e fatores de risco para infecção pelo vírus da Diarreia Viral Bovina em fêmeas leiteiras não vacinadas na região amazônica maranhense, Brasil. **Ciência Rural**. v. 40, n. 6, p. 1448-1451, 2010.

DANTAS, A.F.M.; RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R.M.T.; GALIZA, G.J.N.; PIMENTEL, L.A.; ANJOS, B.L.; MOTA, R.A. Malformações congênitas em ruminantes no semiárido do Nordeste Brasileiro. **Pesquisa veterinária Brasileira**. v. 30, n. 10, p. 807-815, 2010.

EPA. http://www.epa.gov/pesticides/factsheets/chemicals/carbendazim_ra.pdf, acessada em novembro 2017.

FENSTER, L.; ESKENAZI, B.; ANDERSON, M.; BRADMAN, A.; HARLEY, K.; HERNANDEZ, H. Association of in utero organochlorine pesticide exposure and fetal growth and length of gestation in an agricultural population. **Environ Health Perspect**. v. 114, p. 597-602, 2006.

FLORES, E.F.; SCHUCH, L.F.D. Diarreia Viral Bovina. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R.J. (Eds.) **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. v. 1, 3ed. Santa Maria: Pallotti. 2007, p. 81-93.

FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; VOGEL, F.S.F.; ROEHE, P.M.; ALFIERI, A.A.; PITUCO, E.M. Infecção pelo vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) no Brasil – histórico, situação atual e perspectivas. **Pesquisa veterinária Brasileira**. v. 25, n. 3, p. 125-134, 2005.

GRECOO, F.B.; SCHILD, AL.L.; SOARES, M.P.; RAFFI, M.B.; SALLIS, E.S.V.; DAMÉ, M.C. Intoxicação por organofosforados em búfalos (*Bubalus bubalis*) no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 29, n. 3, p. 211-214, 2009.

INFORMATIVO Nº 54. (Secretaria da Política Agrícola). Cenário da Cadeia Produtiva da maça. Ano. 6. Vol. 5. Disponível em: www.agricultura.gov.br/.../editConsultarPublicacaoGrupo2.do?op. acessada em novembro 2017.

JONES, C.T.; HUNT, R.D.; KING, N.W. **Patologia Veterinária**. 6ª Ed. São Paulo: Manole. p. 768.

JONES, C.T.; HUNT, R.D.; KING, N.W. **Patologia Veterinária**. 6ª Ed. São Paulo: Manole. p. 784-786.

KELLERMAN, T.S.; COETZER, J.A.W.; NAUDÉ, T.W. **Plant Poisonings and Mycotoxicoses of Livestock in Southern Africa**, 1ª ed. Oxford, 1990, p. 60-61.

KELLERMAN, T.S.; COETZER, J.A.W.; NAUDÉ, T.W. **Plant Poisonings and Mycotoxicoses of Livestock in Southern Africa**, 1ª ed. Oxford, 1990, p. 63-64.

KENNEDY, M.; LIST, D.; LU, Y.; FOO, L.Y. Apple pomace and products derived from apple pomace: uses, composition and analysis. In: _____. **Modern methods of plant analyses: analysis of plant waste materials**. Berlin: Springer Verlag, v.20, 1999, p. 75-119.

KOŁODZIEJCZYK, K.; MARKOWSKI, J.; KOSMALA, M.; KRÓL, B.; PLOCHARSKI, W. Apple pomace as a potential source of nutraceutical products. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**. v. 57, n. 4, p. 291-295, 2007.

MACAGNAN, F.T. **Potencial Tecnológico e Nutricional de Subprodutos do Processamento de Frutas**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria. 161 p. 2013.

MANTEROLA, H.; CERDA, A.D.; MIRA, J.J. **Los residuos agrícolas y su uso en la alimentación de rumiantes**. Santiago: Ministerio de Agricultura y Fundación para la Innovación Agraria, 1999. p.222.

MARCOLONGO-PEREIRA, C.; SCHILD, A.; SOARES, M.P.; VARGAS, JR. S.F.; RIET-CORREA, F. Defeitos congênitos diagnosticados em ruminantes na Região Sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa veterinária Brasileira**. v. 30, n. 10, p. 816-826, 2010.

MEDEIROS, R.M.T.; FIGUEIREDO, A.P.M.; BENÍCIO, T.M.A.; DANTAS, F.P.M.; RIET-CORREA, F. Teratogenicity of *Mimosa tenuiflora* seeds to pregnant rats. **Toxicon**. v. 51, p. 316-319, 2008.

OLIVEIRA-FILHO, J.C.; CARMO, P.M.S.; PIEREZANI, F.; TOCHETTO, C.; LUCENA, R.B.; RISSI, D.R.; BARROS, C.S.L. Intoxicação por organofosforado em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa veterinária Brasileira**. v.30, n.10, p.803-806, 2010.

PAVARINI, S.P.; SONNE, L.; ANTONIASSI, N.A.B.; SANTOS, A.S.; PESCADOR, C.A.; CORBELLINI L.G.; DRIEMEIER, D. Anomalias congênitas em fetos bovinos abortados no Sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 28, n. 3, p.149-154, 2008.

PIMENTEL, L.A.; RIET-CORREA, F.; GARDNER, D.; PANTER, K.E.; DANTAS, A.F.M.; MEDEIROS, R.M.T.; MOTA, R.A.; ARAÚJO, J.A.S. *Mimosa tenuiflora* as a cause of malformations in ruminants in the Northeastern Brazilian semiarid rangelands. **Veterinary Pathology**. v. 44, n. 6, p. 928-931, 2007.

PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B.; SOBIN, L.H. **Laboratory methods in histotechnology**. Washington: American registry of pathology, 1992, p. 274.

QUINCOZES, C.G.; FISCHER, G.; HUBNER, S.O.; VARGAS, G.D.; VIDOR, T.; BROD, C.S. Prevalencia e fatores associados a infecção pelo vírus da Diarreia Viral Bovina na Região Sul do Rio Grande do Sul. **Semina. Ciências Agrárias**. v.28, n. 2, p. 269-276, 2007.

RADOSTITS, O.M.; BLOOD, D.C.; GAY, C.C. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats**. 8th ed. Baillière Tindall, London. 2000, p. 938-940.

RADOSTITS, O.M.; BLOOD, D.C.; GAY, C.C. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats**. 8th ed. Baillière Tindall, London. 2000, p. 169-173.

RADOSTITS, O.M.; BLOOD, D.C.; GAY, C.C. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats**. 8th ed. Baillière Tindall, London. 2000, p. 2215.

RADOSTITS, O.M.; BLOOD, D.C.; GAY, C.C. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats**. 8th ed. Baillière Tindall, London. 2000, p. 1368-1453.

RIBEIRO FILHO, H. M. N.; OLIVEIRA JUNIOR, L.C.S.; DIAS K.M. Avaliação nutricional do bagaço de maçã como suplementação energética para bovinos. **Ciência Animal**. v.42, n.9, p.1627-1633, 2012.

RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M.D.C. *Mimosa tenuiflora*. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R.J. (Eds). **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. v. 2, 3ª Ed. Santa Maria: Palloti, 2007, p. 189-191.

RIET-CORREA, F. Língua azul. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R.J. (Eds). **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. v. 2, 3ª Ed. Santa Maria: Palloti, 2007, p.169-173.

RIVERO, R.; MATTO, C.; ADRIEN, M.L.; RAMPOLDI, O. Intoxicação por organoclorados (Endosulfan) em bovinos no Uruguai. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.31, n. 4, p. 277-280, 2011.

SAMARA, I.S.; DIAS, F.C.; MOREIRA, S.P.G. Ocorrência da Diarreia Viral Bovina nas Regiões Sul do estado de Minas Gerais e Nordeste do Estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research na Animal Science**. v. 41, p. 396-403, 2004.

SANTAMARTA, J. Por um futuro sem contaminantes orgânicos persistentes. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**. v. 2, n. 1, p. 46-56, 2001.

SANTOS, J.R.S.; DANTAS, A.F.M.; RIET-CORREA, F. Malformações, abortos e mortalidade embrionária em ovinos causada pela ingestão de *Mimosa tenuiflora* (Leguminosae). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 32, n. 11, p. 1103-1106, 2012.

SCHILD, A.L. Defeitos congênitos. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R.J. (Eds). **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. v. 1, 3ª Ed. Santa Maria: Palloti, 2007, p. 25-55.

SEIXAS, J.N.; PEIXOTO, P.V.; ARMIÉN, A.G.; JABOUR, F.F.; BRITO, M.F. Aspectos clínicos e patogenéticos da intoxicação por abamectina em bezerros. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 26, n. 3, p. 161-166, 2006.

TOKARNIA, C.H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO, P.V. Intoxicação experimental por *Conium maculatum* (Umbeliferae) em bovinos e ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 5, n. 1, p. 15-25, 1985.

THE CENTER FOR FOOD SECURITY E PUBLIC HEALTH. Disponível em: www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/akabane. Acessado em novembro, 2017.

TOKARNIA, C.H.; BRITO, M.F.; BARBOSA, J.D.; PEIXOTO, P.V.; DOBEREINER, J. **Plantas Tóxicas do Brasil**. 2ª ed. Rio de Janeiro, 2012, p. 392-395.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE. Poison Hemlock (*Conium maculatum*). Disponível em: <http://www.ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=9975>

ZACHARY, J.; McGAVIN, M.D. **Bases da Patologia em Veterinária**. 5ª Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013, p. 1115.

WOLANSKY, M.J.; HARRILL, J.A. Neurobehavioral toxicology of pyrethroid insecticides in adult animals: a critical review. **Neurotoxicol Teratol**. v. 30, p. 55-78, 2008.

ZHENG, Z.; SHETTY, K. Solid-State production of beneficial fungi on apple processing wastes Using glucosamine as the Indicator of Growth. **Journal Food Chemical**. v. 46, n. 2, p. 783-787, 1998.

Anexo

Anexo 1. Resultado da análise de resíduos de agrotóxicos no bagaço de maçã utilizada no experimento.

Compostos Analisados	Concentração na amostra (mg kg ⁻¹)	LOD (mg kg ⁻¹)	LOQ (mg kg ⁻¹)	U (%)
Atrazina	n.d.	0,001	0,003	-
Azinfós-metil	n.d.	0,003	0,010	-
Azoxistrobina	n.d.	0,001	0,003	-
Bispiribaque-sódico	n.d.	0,001	0,003	-
Boscalida	n.d.	0,001	0,003	-
Bromoconazol	n.d.	0,008	0,025	-
Buprofezina	n.d.	0,001	0,003	-
Carbaril	n.d.	0,003	0,010	-
Carbendazim	0,006	0,001	0,003	-
Carbofurano-3-OH	n.d.	0,003	0,010	-
Carbofurano	n.d.	0,001	0,003	-
Carboxim	n.d.	0,001	0,003	-
Cianazina	n.d.	0,003	0,010	-
Clomazone	n.d.	0,001	0,003	-
Clorimuron	n.d.	0,002	0,005	-

Clorpirifós etílico	n.d.	0,002	0,005	-
Clorpirifós metílico	n.d.	0,015	0,050	-
Deltametrina	n.d.	0,008	0,025	-
Diazinona	n.d.	0,001	0,003	-
Difenoconazol	n.d.	0,002	0,005	-
Dimetoato	n.d.	0,003	0,010	-
Emamectina	n.d.	0,008	0,025	-
Epoxiconazol	n.d.	0,001	0,003	-
Fenpropatrina	n.d.	0,003	0,010	-
Fenpropimorfe	n.d.	0,001	0,003	-
Fentiona	n.d.	0,002	0,005	-
Fipronil	n.d.	0,003	0,010	-
Fluquiconazol	n.d.	0,002	0,005	-
Flutolanil	n.d.	0,002	0,005	-
Imazalil	n.d.	0,001	0,003	-
Imidacloprido	n.d.	0,003	0,010	-
Iprovalicarbe	n.d.	0,002	0,005	-
Linurom	n.d.	0,002	0,005	-
Malationa	n.d.	0,002	0,005	-
Mecarbam	n.d.	0,003	0,010	-
Mepronil	n.d.	0,001	0,003	-
Metalaxil	n.d.	0,001	0,003	-
Metconazol	n.d.	0,002	0,005	-
Metiocarbe sulfona	n.d.	0,001	0,003	-
Metiocarbe sulfóxido	n.d.	0,001	0,003	-
Metsulfurom metílico	n.d.	0,003	0,010	-
Mevinfós	n.d.	0,001	0,003	-
Miclobutanil	n.d.	0,002	0,005	-
Monesina	n.d.	0,002	0,005	-
Monocrotofós	n.d.	0,002	0,005	-
Monolinuron	n.d.	0,002	0,005	-
Oxamil	n.d.	0,003	0,010	-
Paraoxon etílico	n.d.	0,001	0,003	-
Piraclostrobina	n.d.	0,001	0,003	-
Pirazofós	n.d.	0,001	0,003	-
Piridabem	n.d.	0,001	0,003	-
Piridafentiona	n.d.	0,001	0,003	-
Piridato	n.d.	0,003	0,010	-
Primetanil	n.d.	0,001	0,003	-
Pirimicarbe	n.d.	0,001	0,003	-
Pirimifós metílico	n.d.	0,001	0,003	-
Profenofós	n.d.	0,001	0,003	-

Propargito	n.d.	0,001	0,003	-
Propiconazol	n.d.	0,001	0,003	-
Propizamida	n.d.	0,002	0,005	-
Propoxur	n.d.	0,003	0,010	-
Quinoxifeno	n.d.	0,001	0,003	-
Simazina	n.d.	0,002	0,005	-
Tebuconazol	n.d.	0,008	0,025	-
Terbutilazina	n.d.	0,001	0,003	-
Tetraconazol	n.d.	0,001	0,003	-
Tiactoprido	n.d.	0,001	0,003	-
Tiametoxam	n.d.	0,003	0,010	-
Tiodicarbe	n.d.	0,002	0,005	-
Tolclofós metílico	n.d.	0,003	0,010	-
Triadimefom	n.d.	0,003	0,010	-
Triazofós	n.d.	0,001	0,003	-
Triclorfom	n.d.	0,002	0,005	-
Trifloxistrobina	n.d.	0,001	0,003	-
Triflumizol	n.d.	0,001	0,003	-
Vamidotiona	n.d.	0,001	0,003	-

RESULTADOS E ESPECIFICAÇÕES DOS LIMITES DO MÉTODO:

Compostos analisados	Concentração na amostra (mg kg ⁻¹)	LOD (mg kg ⁻¹)	LOQ (mg kg ⁻¹)	U (%)
Abamectina	n.d.	0,008	0,025	-

LOD = Limite de detecção do método

LOQ = Limite de quantificação do método

n.d = não detectado, ou seja, menor que o limite de detecção

U = incerteza expandida, considerando K (fator de abrangência) = 2