



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**INTOXICAÇÃO POR PLANTAS QUE CONTÊM NITRATOS EM RUMINANTES
NO NORDESTE DO BRASIL**

JOÃO GONÇALVES SIMÕES

PATOS-PB

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS – GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DE PATOS-PB

**INTOXICAÇÃO POR PLANTAS QUE CONTÊM NITRATOS EM RUMINANTES
NO NORDESTE DO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

Mestrando: JOÃO GONÇALVES SIMÕES

Orientador: Prof. Dr. Antônio Flávio Medeiros Dantas

PATOS - PB

2016

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA
UFCG**

S593i

Simões, João Gonçalves

Intoxicação por plantas que contém nitratos em ruminantes no
nordeste do Brasil / João Gonçalves Simões. – Patos, 2016.
47f.

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade
Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2016.

"Orientação: Prof. Dr. Antônio Flávio Medeiros Dantas"

"Co-orientação: Profa. Dra. Rosane Maria Trindade de Medeiros"

Referências.

1. Nitratos. 2. Intoxicação. 3. Cianose. 4. Difenilamina.
5. Azul de metileno. I.Título.

CDU 616:619

**INTOXICAÇÃO POR PLANTAS QUE CONTÊM NITRATOS EM RUMINANTES
NO NORDESTE DO BRASIL**

JOÃO GONÇALVES SIMÕES

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Antônio Flávio Medeiros Dantas

Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/UFCG/CSTR – Patos/PB

(Orientador)

Prof. Dr. Eldinê Gomes de Miranda Neto

Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/UFCG/CSTR – Patos/PB

Prof. Dr. Glauco José Nogueira de Galiza

Universidade de Cuiabá - UNIC

Patos – PB

2016

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu grandioso Deus por todas as obras boas que tem feito em minha vida. Mas gostaria de agradecer especialmente aos meus orientadores, a professora Dra. Rosane Maria Trindade de Medeiros por ter colaborado na minha formação profissional, pela compreensão nas horas de dificuldades e amizade durante todos esses anos. Agradeço ao meu Dr. Franklin Riet-Correa, por toda a educação científica que teve comigo durante esses anos de convivência, costumo dizer que o tenho como um exemplo de humildade e caráter humano, o considero como modelo de inspiração para minha vida profissional. Agradeço ao professor Dr. Antônio Flávio por me orientar na reta final da dissertação.

Aos meus eternos irmãos agricultores do Alto Sertão do Pajeú, Sertão da Paraíba, Cariri Paraibano, pela imensa paciência, boa vontade e calor humano, cujas contribuições são imprescindíveis para a realização desse trabalho.

Ao Jonas, pelos esforços que ele tem feito para atender as demandas de todos os alunos do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária – PPGMV, sobretudo as minhas, e aos professores do PPGMV, pelo empenho.

Aos funcionários do hospital veterinário UFCG/CSTR, em especial, Gileno Alves (Cuité) e José (seu Zé).

As pessoas que não estão mais aqui e sempre me apoiaram de alguma forma, meu avô Inácio grande conhecedor de forma empírica de plantas tanto medicinais como tóxicas da caatinga e minha avó Inácia, meu tio Antônio Simões que sempre me incentivou em meus sonhos. Meu vizinho José Paulino que sempre apoiou para que me tornasse Médico Veterinário. A pessoa que tive primeiro contato na UFCG o grandioso Fabrício Oliveira que foi para eternidade, mas, vai ser sempre um exemplo de felicidade.

Agradeço ao meu amigo Robério Gomes Olinda pelos conselhos e contribuições na dissertação. Aos Médicos veterinários, Residentes e Professores da clínica de grandes animais da UFCG/CSTR Daniel, Mikael Tolentino, Júlio Édson, Paulo Ricardo, Natanel, Marcelo Laurentino, Rodolfo, Professor Eldinê e Professora Tatiane pela grande amizade e carinho durante esses longos anos. Aos professores Antônio Flávio, Eldinê e Glauco Galiza pela grande contribuição na banca com o julgamento e pelas críticas construtivas ao trabalho.

O agradecimento mais especial vai para a pessoa mais importante da minha vida, a minha mãe Cosma Gonçalves Simões, por toda dedicação e ensinamentos de vida que sempre me ofereceu. Obrigado por tudo mãe!

Ao meu pai José Batista Simões Filho, por ter me ensinado virtudes como caráter e respeito. Obrigado pai!

As minhas irmãs, Salomé, Simone por sempre me apoiarem em tudo que faço e me fazem ter forças para continuar com determinação a caminhada.

Por fim, agradeço a minha grande companheira, amiga e namorada Maria Eduarda Obrigado, por toda paciência durante todos os anos de relacionamento. Obrigado por acreditar em mim e por sempre estar ao meu lado.

RESUMO

Objetivou-se com esse estudo investigar intoxicações por nitrato/nitrito na Paraíba e Pernambuco. No primeiro Capítulo, relatam-se históricos de surtos de intoxicação por *Portulaca oleracea* em caprinos e ovinos nos Estados de Pernambuco e Paraíba. Foi desenvolvido um modelo de reprodução experimental da intoxicação e comprovada que a toxicose é causada pelas altas concentrações de nitratos presentes na planta. Verificou-se a presença de nitratos em amostras da planta de diversos locais dos Estados de Pernambuco e Paraíba através do teste da difenilamina. No segundo Capítulo, são apresentados dois surtos de intoxicação por nitrato e nitrito em bovinos na Paraíba, Nordeste do Brasil. O primeiro por *Pennisetum purpureum* (capim elefante) e o segundo por *Pennisetum purpureum* e *Brachiaria* sp (capim braquiária) que ocorreram durante o período de seca prolongada. No primeiro a utilização de águas residuais contribuiu de forma decisiva para o acúmulo de nitratos. No segundo vários fatores de riscos entre eles antrópicos como fertilização de adubos químicos, herbicidas, queimadas e fenômenos naturais já que as capineiras estavam plantadas no leito do açude que estava submerso por muito tempo e área que possuía alta quantidade de matéria orgânica. Os sinais clínicos se caracterizaram por dispneia, cianose na mucosa ocular, oral e vaginal, ataxia e quedas que evoluíram ao óbito. A presença de nitrato foi detectada nos dois surtos por meio do teste da difenilamina. Os testes quantitativos foram realizados no segundo surto por meio de medidor portátil de nitratos onde se verificou alta quantidade de nitratos nas amostras analisadas. Os achados macroscópicos característicos, ausência de lesões microscópicas e a resposta ao tratamento com azul de metileno também foram decisivos para determinação de intoxicação por nitrato e nitrito. Conclui-se que o risco de ocorrência de intoxicações por nitratos e nitritos no Nordeste é frequente, já que existe ocorrência de fatores de risco para o acúmulo de nitratos nas plantas e que o aparelho portátil é uma excelente alternativa para quantificação de nitratos nas pastagens suspeitas.

Palavras-chave: Nitratos, intoxicação, cianose, difenilamina, azul de metileno.

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate nitrate / nitrite intoxications in Paraíba and Pernambuco. In the first chapter, there are reports of outbreaks of *Portulaca oleracea* intoxication in goats and sheep in the states of Pernambuco and Paraíba. A model of experimental reproduction of intoxication has been developed and proven that the toxicose is caused by the high concentrations of nitrates present in the plant. The presence of nitrates in plant samples from several locations in the states of Pernambuco and Paraíba was verified through the diphenylamine test. In the second chapter, two outbreaks of nitrate and nitrite intoxication in cattle are reported in Paraíba, Northeast Brazil. The first was by *Pennisetum purpureum* (elephant grass) and the second by *Pennisetum purpureum* and *Brachiaria sp* (brachiaria grass) that occurred during the prolonged drought period. In the former the use of wastewater contributed decisively to the accumulation of nitrates. In the second, several risk factors, such as fertilization of chemical fertilizers, herbicides, fires and natural phenomena, were planted in the bed of the dam that was submerged for a long time and in an area that had a high amount of organic matter. Clinical signs were characterized by dyspnoea, cyanosis in the ocular mucosa, oral and vaginal, ataxia and falls that evolved to death. The presence of nitrate was detected in the two outbreaks by means of the diphenylamine test. The quantitative tests were performed in the second outbreak by means of a portable nitrate meter, where a high amount of nitrates was observed in the analyzed samples. The characteristic macroscopic findings, absence of microscopic lesions and response to methylene blue treatment were also decisive for the determination of nitrate and nitrite intoxication. It is concluded that the risk of occurrence of nitrate and nitrite intoxication in the Northeast is frequent, since there is a risk factor for nitrate accumulation in the plants and that the portable device is an excellent alternative for quantifying nitrates in suspect pastures.

Key words: Nitrates, intoxication, cyanosis, diphenylamine, methylene blue.

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| LISTA DE QUADROS | 10 |
| LISTA DE FIGURAS | 11 |
| INTRODUÇÃO GERAL | 12 |
| CAPÍTULO I: Intoxicação por <i>Portulaca oleracea</i> em ovinos e caprinos no Nordeste, Brasil | 14 |
| ABSTRACT | 15 |
| RESUMO | 16 |
| INTRODUÇÃO | 16 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 17 |
| RESULTADOS | 19 |
| DISCUSSÃO | 22 |
| CONCLUSÃO | 24 |
| CAPÍTULO II: Achados clínicos, toxicológicos e fatores de risco da intoxicação por nitratos e nitritos em bovinos na Paraíba, Nordeste do Brasil | 27 |
| ABSTRACT | 28 |
| RESUMO | 29 |
| INTRODUÇÃO | 30 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 31 |
| RESULTADOS | 32 |
| DISCUSSÃO E CONCLUSÃO | 36 |
| CONSIDERAÇÕES GERAIS | 43 |
| ANEXOS | 44 |

LISTA DE QUADROS

Capítulo II

| | |
|--|----|
| Quadro 1 Surto de intoxicação por nitratos e nitritos em bovinos no município de Cabaceiras-PB, número de propriedades, de animais mortos e o total do rebanho..... | 33 |
| Quadro 2 Intoxicação espontânea por nitratos em Cabaceiras-PB, no período de estiagem, propriedades, tipo de forragem, teste qualitativo de difenilamina, teste quantitativo com medidor portátil em ppm | 35 |
| Quadro 3 Precipitações pluviométricas ocorridas nos municípios de Patos-PB em 2013 e Cabaceiras-PB em 2015..... | 36 |

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

| | |
|--|----|
| Figura 1–) <i>Portulaca oleracea</i> , no município de Patos – PB..... | 26 |
| Figura 2 – A) Intoxicação por <i>P. oleracea</i> em ovinos e caprinos – A) Caprino em decúbito esternal, depressivo e com timpanismo. B) Mucosas cianóticas do ovino experimental N° 6. C) Presença de vasos dilatados com sangue de cor marrom no abomaso. D) Teste da difenilamina. Reação positiva em menos de 10 segundos na <i>Portulaca oleracea</i> | 26 |

Capítulo II

| | |
|---|----|
| Figura 1 medidor portátil de nitratos horiba | 42 |
| Figura 2 Fatores de risco para acúmulo de nitratos em forrageiras. A-) Teste da Difenilamina com reação positiva, B-) Plantações com fertilização e uso de defensivos, C-) capineiras de capim elefantes, braquiária, D-) introdução de plantações de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>) com utilização de adubos e defensivos..... | 42 |

INTRODUÇÃO GERAL

O conhecimento de intoxicações por plantas que afetam os animais de produção, por meio de diagnósticos clínicos, epidemiológicos, histopatológicos, reproduções experimentais é de extrema importância para controle e/ou erradicação de plantas tóxicas (Riet-Correa et al. 2012). No Brasil há relatos de intoxicação por nitrato/nitrito por capim elefante. (*Pennisetum purpureum*) comumente utilizada como forrageiras na região nordeste do Brasil e tem sido responsabilizado como grande causadora de surtos de intoxicação por nitratos e nitritos. Essa intoxicação foi diagnosticada pela primeira vez no Brasil em 1993 no estado do Ceará, no Açude de Banabuiú do município de Quixeramobim (Tokarnia et al, 2012); e no sertão da Paraíba foram descritos três surtos sendo um causado pela ingestão de capim-mandante (*Echinochloa polystachya*) no município de Patos – PB, e os demais por capim-elefante (*Pennisetum purpureum*), um no município de Patos – PB e outro no município de São José da Lagoa Tapada - PB (Medeiros et al. 2003). A intoxicação por nitrato/nitrito no Brasil também é relatada no Sul do Brasil em bovinos em pastoreio de aveia (*Avena sativa*) e azevém (*Lolium spp*) (Jonck, 2013). Na intoxicação por Nitratos e nitritos, os sinais clínicos caracterizam-se por mucosas cianóticas, dificuldade respiratória, respiração com pescoço estendido, ranger de dentes, anorexia, apatia ou hiperexcitabilidade, tremores, contrações abdominais, salivação, corrimento nasal, andar cambaleante, olhar assustado, pelos arrepiados, decúbito e morte que ocorre de 1 a 10 horas (Medeiros et al. 2003).

Esta Dissertação, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande como parte dos requisitos para recebimento do título de Mestre em Medicina Veterinária, é composta por dois artigos formatados de acordo com o que estabelece a NORMA N° 01/2011 de 03 de junho de 2011 do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da UFCG, Campus de Patos - PB.

No capítulo I constam estudos realizados sobre a Intoxicação por *Portulaca oleracea* em ovinos e caprinos no Nordeste, Brasil. No capítulo II são apresentadas investigações dos surtos de Intoxicação em bovinos alimentados com *Brachiaria ssp.* (braquiária) e/ou *Pennisetum purpureum* (capim elefante) na Paraíba, Nordeste do Brasil.

REFERÊNCIAS

- Jonck F. Intoxicação espontânea e experimental por nitrato/nitrito em bovinos alimentados com *Avena sativa* (aveia) e/ou *Lolium* spp. (azevém). 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages. p.13-41
- Medeiros R. M. T., Riet-Correa F., Tabosa I. M., Silva Z. A., Barbosa R. C., Marques A. V. M. S., Nogueira F.R.B. 2003. 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.
- Riet-Correa F., Fioravanti M. C. S., Medeiros R. M. T. 2012. A Pecuária Brasileira e as Plantas Tóxicas Revista UFG / Dezembro / Ano XIII nº 13. p.83-90.
- Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. Plantas Tóxicas do Brasil. 2ª ed. Editora Helianthus, Rio de Janeiro, 566p.

**CAPÍTULO I: INTOXICAÇÃO POR PORTULACA OLERACEA EM OVINOS E
CAPRINOS NO NORDESTE, BRASIL**

(Manuscrito submetido à Pesquisa Veterinária Brasileira)

Intoxicação por *Portulaca oleracea* em ovinos e caprinos no Nordeste, Brasil¹

João Gonçalves Simões², Rosane Maria Trindade de Medeiros³, Robério Gomes Olinda^{3*}, Antonio Flavio Medeiros Dantas³, Márcia Alves de Medeiros³, Franklin Riet-Correa⁴

ABSTRACT. Simões J.G., Medeiros M.A., Medeiros R.M.T., Olinda R.G., Riet-Correa F., Dantas A.F.M. 2016. [**Poisoning by *Portulaca oleracea* in sheep and goats in Northeastern Brazil**]. Programa de Pós - graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos – PB. Avenida Universitária S/N -Bairro Santa Cecília - Patos/PB, CEP: 58708-110, Brasil. E-mail: rgumes@hotmail.com

Three outbreaks of poisoning by *Portulaca oleracea* are reported in sheep and goats in Northeast Brazil. In the first outbreak, 8 out of 20 sheep were affected and died. In the second, three goats and one sheep died in a flock of 30 animals of both species. In the third outbreak in a flock of 19 sheep, two were affected and recovered after treatment with 2% methylene blue at the dose of 4 mg/kg body weight. In outbreaks 1 and 2 the animals ingested *P. oleracea* after being cut and offered in feeders. In outbreak 3, the flock was grazing in an area invaded by the plant. To determine its toxicity, *P. oleracea* was administered experimentally, at a dose of 80 g/kg body weight, to seven sheep, weighing 19-30 kg. One control sheep received green grass. One to four hours after ingestion of the plant the animals showed clinical signs characterized by cyanotic mucous membranes, bloat, ruminal pH of 8-9, pollakiuria, bellows, involuntary movements of the upper lip, apathy, tachypnea and tachycardia. Five animals recovered, including one treated with 1% methylene blue, and two died. At necropsy the mucous membranes were brownish and the blood dark brown. The diphenylamine test performed in the plant and in rumen contents was positive for nitrates. Positive results for nitrates were found in 24

¹ Recebido em...

Aceito para publicação em...

² Médico Veterinário, Mestrando, Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (PPGMV), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos –PB. Avenida Universitária S/N - Bairro Santa Cecília -Patos/PB, CEP:58708 - 110, Brasil.

³ Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária (UAMV), Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Av. Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB, 58700-970, Brasil.

*Autor para correspondência, E-mail: rgumes@hotmail.com

⁴ National Institute for Agricultural Research (INIA), La Estanzuela, CP 70.000, Colonia, Uruguay

samples collected in different places in the states of Pernambuco and Paraíba. It is concluded that *P. oleracea* accumulates nitrates in toxic levels, and may cause poisoning in sheep and goats.

Keywords: methemoglobinemia, nitrates, nitrites, toxic plants, Portulacaceae.

RESUMO. Relatam-se três surtos de intoxicação por *Portulaca oleracea* em ovinos e caprinos no Nordeste do Brasil. No primeiro surto morreram oito de 20 ovinos. No segundo morreram três caprinos e um ovino de um total de 30 animais das duas espécies. No terceiro surto foram afetadas duas ovelhas de um rebanho de 19 animais, que se recuperaram após o tratamento com azul de metileno a 2% na dose de 4 mg/kg/vivo. Nos surtos 1 e 2 os animais ingeriram *P. oleracea* cortada e oferecida no coxo e no surto 3 estavam pastoreando em uma área invadida pela planta. Para determinar a toxicidade de *P. oleracea* foram utilizados oitos ovinos, sendo sete experimentais e um controle, com peso entre 19 e 30 kg. A planta foi administrada por via oral, na dose de 80 g/kg/peso corporal. O animal controle recebeu capim verde e concentrado. Entre uma a quatro horas após a ingestão da planta os animais apresentaram sinais clínicos caracterizados por mucosas cianóticas, timpanismo gasoso, pH ruminal de 8-9, polaquiúria, aerofagia, movimentos involuntários do lábio superior, apatia, taquipnéia e taquicardia. Cinco animais se recuperaram, incluindo um que foi tratado com azul de metileno a 2%, e dois morreram. Na necropsia observaram-se mucosas de coloração marrom e sangue marrom escuro. O teste de difenilamina realizado na planta e no conteúdo ruminal foi positivo para nitratos. Resultados positivos para nitratos foram detectados em 24 amostras coletadas em diferentes locais dos estados de Pernambuco e Paraíba. Conclui-se que *P. oleracea* acumula nitratos em níveis tóxicos, e quando ingerida por ovinos e caprinos pode provocar intoxicação e morte.

Palavras chaves: meta-hemoglobinemia, nitratos, nitritos, plantas tóxicas, Portulacaceae.

INTRODUÇÃO

A *Portulaca oleracea* é citada por conter nitratos ou oxalatos (Everist 1974, Rahman et al. 2013, Kessell et al. 2015); no entanto, não é encontrado trabalhos científicos que descrevam a intoxicação causada por nitratos e nitritos após o consumo dessa planta.

Por outro lado, a administração de *P. oleracea* a caprinos nas doses de 5g/kg/PV ou *ad libitum* durante períodos de 15 a 40 dias causou meteorismo, diarreia, inapetência, sonolência, debilidade dos membros e decúbito seguido de morte em poucos dias, com lesões renais e hepáticas (Obied et al. 2003).

Na Austrália, casos de intoxicação por nitratos e oxalatos ocorreram em ovinos e bovinos famintos, após consumirem grandes quantidades de *P. oleracea*, quando se apresentava em um estado suculento, onde houve crescimento após a chuva, depois de um período de seca (Everist 1974).

No Brasil, *P. oleracea* é mencionada por produtores da microrregião do Seridó Oriental e Ocidental do Rio Grande do Norte, como causadora de alterações digestivas, induzindo a quadros de timpanismo em bovinos (Silva et al. 2006).

Os objetivos desse trabalho foram relatar históricos de surtos de intoxicação por *P. oleracea* em ovinos e caprinos nos estados de Pernambuco e Paraíba; descrever a reprodução experimental da intoxicação, comprovar que a toxicose é causada pelas altas concentrações de nitratos/nitritos na planta e determinar a presença de nitratos em amostras da planta de diversos locais dos estados de Pernambuco e Paraíba.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho foram utilizados dados epidemiológicos de casos de intoxicação espontânea por *P. oleracea* coletados durante visitas às fazendas em que ocorreram surtos suspeitos de intoxicação por uma planta conhecida popularmente como beldroega no ano de 1997, no município de São José do Egito - PE e em 2013 no município de Tabira - PE, ambos no estado de Pernambuco região Nordeste do Brasil. Descreve-se, ainda, um surto da intoxicação no ano 2015 em Tabira - PE, após ter sido comprovado que a planta causa intoxicação por nitratos e nitritos.

A reprodução experimental foi realizada no período de julho a agosto de 2012. A planta foi coletada em uma propriedade a 3 km de São José do Egito-PE, onde ocorreu o surto de 1997, foi confeccionada exsicata, posteriormente depositada no herbário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos – Paraíba para identificação botânica. Para o experimento foram utilizados oito ovinos deslançados, sem raça definida, com média de idade dois anos, sendo um controle e sete experimentais.

Os animais foram submetidos a exame parasitológico e desverminados. Posteriormente passaram por um período de adaptação de uma semana nas baias onde foram realizados os experimentos. Antes da administração da planta todos os animais foram submetidos a jejum de 12 horas e em seguida foram pesados, para determinação da dose a ser administrada.

A planta foi colhida entre as 5:00 e as 6:00 horas da manhã, a área infestada pela planta correspondia a seis hectares. Em seguida a planta foi transportada ao Hospital Veterinário da UFCG em Patos - PB, a 75 km. No HV a planta foi pesada e administrada a sete ovinos, com peso vivo entre 19 e 30 kg, em dose única de 80g/kg/ de peso corporal (pc). A planta foi fornecida aos ovinos no cocho para consumo espontâneo a cada animal de acordo ao respectivo peso vivo. Animais que não ingeriam espontaneamente, fazia-se a administração manual colocando pequenas quantidades na cavidade oral e estimulando a mastigação e deglutição. O ovino controle recebeu, no cocho, concentrado a base de farelo de milho, soja e feno de capim tifton (*Cynodon sp*) *ad libitum*.

Os animais passaram por avaliação dos parâmetros clínicos (temperatura retal, frequências cardíaca, respiratória e movimentos ruminais) seguindo a metodologia de Feitosa (2008). Além disso, coletou-se sangue em tubos com EDTA para realização de hemograma, urina para urinálise e soro sanguíneo para determinar a atividade sérica de aspartato aminotransferase (AST) e gama glutamil transferase (GGT). O suco ruminal foi obtido através de uma sonda orogástrica. Verificou-se presença ou ausência de gás, sendo obtidos 10 mL de líquido ruminal para testes de sedimentação e tempo de flotação.

Os animais que morreram, foram necropsiados e fragmentos de órgãos da cavidade torácica, abdominal e sistema nervoso central foram coletados, fixados em formol tamponado a 10%, processados rotineiramente, cortados em secções de 5 µm e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (HE) para exame histopatológico. Após a confirmação da causa do distúrbio foi realizado o tratamento. A detecção de nitratos de foi realizada pela prova de difenilamina (Medeiros et al. 2003) em amostras da planta, conteúdo ruminal, sangue dos ovinos intoxicados e foi realizado o controle do teste incluindo testemunha (planta com negativa para nitratos).

Em março de 2014 realizaram-se colheitas de *P. oleracea* no Estado da Paraíba, nos municípios de Monteiro, na região do cariri, Patos, São José do Bonfim e Teixeira, no sertão paraibano. No estado de Pernambuco foram coletadas amostras na região do Sertão do Pajeú, nos municípios de Santa Terezinha, Tabira, Brejinho e São José do Egito. No

total coletaram-se três amostras por município, totalizando 24 amostras. As amostras foram colhidas em terrenos de pastejo para ruminantes, que tinham uma variedade de plantas sem dominância de nenhuma espécie vegetal e nos que não havia antecedentes de intoxicação. Todas as amostras exceto as coletadas em Monteiro - PB foram coletadas durante o período seco quando ainda não tinham começado as chuvas.

RESULTADOS

Intoxicação espontânea

O primeiro surto de intoxicação por beldroega em ovinos foi relatada em uma fazenda localizada (07°28'44"S e 37°16'28"W) no município de São José do Egito - PE, no ano de 1997. A planta foi identificada como sendo *Portulaca oleracea* L. pertence à família Portulacaceae um exemplar está tombado no Herbário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Campus de Patos, Paraíba, Brasil com o registro de n°3896.

Foi reportado pelo criador que neste período a região havia passado por prolongada estiagem, que diminuiu a oferta de pastagem nativa na caatinga. Os animais estavam sendo alimentados com palma forrageira de baixa quantidade e capim elefante cortado e fornecido no cocho.

Cinco dias após a ocorrência de uma chuva, a planta identificada por *P. oleracea*, conhecida popularmente como beldroega brotou e o proprietário coletou-a e forneceu no cocho em grande quantidade para 20 ovinos, entre jovens e adultos, todos com baixo escore corporal. Todos os animais apresentaram sinais de intoxicação e 8 morreram aproximadamente 2 horas após o início da ingestão da planta. Os sinais clínicos descritos pelo produtor foram fraqueza, timpanismo com aumento de volume do flanco esquerdo, agitação, polaquiúria, pelos arrepiados e decúbito seguido de morte. Em outros dois estabelecimentos da mesma região de São José do Egito-PE, os produtores relataram que na mesma época tinha ocorrido uma doença semelhante em ovinos que ingeriram a *P. oleracea* espontaneamente no campo. Em São José do Bonfim, sertão paraibano, três produtores relataram em 2011 que ovinos criados a pasto ingeriram também a mesma planta e tiveram sinais clínicos de intoxicação.

O sétimo surto de intoxicação por *P. oleracea* ocorreu em março de 2013 no município de Tabira-PE (7°39'32.8"S e 37°32'27.1"W), num rebanho de 30 animais entre ovinos e caprinos. Morreram três caprinos e um ovino. Nessa região em 2012, as

precipitações pluviométricas foram de 289,5 mm e em seis meses não houve nenhuma precipitação, sendo considerado o ano mais seco já registrado do município que tem uma média anual é de 806 mm. Em 2013 o total acumulado de chuvas, até o mês de março, quando ocorreu a intoxicação, era de apenas 69 mm (IPA 2012, INMET 2016).

A planta ofertada aos animais foi colhida em uma área adubada com esterco oriundo do curral dos animais. A planta foi administrada às 7:00 horas da manhã; três horas após os animais já demonstravam sinais clínicos de intoxicação, caracterizados por quedas, dor abdominal, berros, depressão, decúbito esternal, desvio lateral da cabeça e timpanismo (Figura 2, A). O médico veterinário que atendeu os animais administrou antitóxico, mas, não obteve nenhuma resposta e os animais morreram.

O oitavo surto de intoxicação por *P. oleracea* ocorreu em dezembro de 2015, na mesma propriedade do sétimo surto, em um rebanho composto por 21 ovinos. Os animais estavam pastando em uma área que era anteriormente usada para plantação de tomate (*Solanum lycopersicum*). O produtor relatou que utilizava muitos agrotóxicos e adubos químicos. Colocou os animais dentro da plantação, devido a que no período havia escassez de água e seria inviável continuar com a irrigação das plantas de tomate. Duas ovelhas gestantes apresentaram timpanismo, apatia, berros, andar cambaleante e mucosas cianóticas. As ovelhas foram tratadas com azul de metileno a 2% na dose de 4 mg/kg/ de peso corporal (pc). Uma ovelha se recuperou entre uma a seis horas, e a outra após 24 horas. Uma ovelha abortou uma semana após o tratamento e a outra pariu dois cordeiros hígidos. Em amostras da planta colhidas e testada para nitratos através da prova da difenilamina verificou-se forte positividade para nitratos.

Intoxicação experimental

Todos os animais utilizados no experimento apresentaram temperatura, frequências cardíaca, respiratória e movimentos ruminais normais antes da administração da planta. Após a administração todos os animais exibiram sinais clínicos, variando em intensidade de leve a grave. Dos oito ovinos que foram utilizados para a reprodução experimental dois morreram (ovinos 5 e 6) e cinco se recuperaram: os ovinos 1, 2, 3, 4 sem receber tratamento, e o ovino 8 após o tratamento com azul de metileno. O animal controle (ovino 7) permaneceu hígido durante o experimento.

Os sinais clínicos foram observados entre 20 e 30 minutos após a administração da planta, iniciando por movimentos involuntários do lábio superior (ovinos 1, 2, 5, 6 e 8),

amplitude maior do som dos movimentos ruminais sem necessidade de se utilizar o estetoscópio (ovinos 1, 2, 5 e 8), timpanismo (ovinos 3 e 4), aerofagia (ovinos 2, 4, 5 e 6), polaquiúria (ovinos 1, 2, 3, 5 e 8), sensibilidade abdominal (ovinos 3 e 5), disfagia (ovino 5), pelos arrepiados (ovinos 5 e 6), diminuição dos movimentos ruminais (ovinos 4 e 5), salivação (ovino 6), mucosas cianóticas (ovinos 5,6 e 8), tremores (ovino 6), andar cambaleante (ovinos 5 e 6), decúbito esternal (ovino 5), dispneia com pescoço estendido (ovinos 5 e 6), bruxismo (ovinos 5 e 6), apatia (ovinos 5, 6 e 8), pulso jugular (ovino 5), corrimento nasal (ovinos 5 e 6), opistótono (ovino 5), temperatura de 40,5 °C (ovino 5), olhar assustado (ovinos 5 e 6), taquicardia (ovinos 5 e 6), taquipneia (ovinos 5,6 e 8), êmese (ovinos 5 e 6) e decúbito lateral (ovinos 5 e 6).

A Polaquiúria se iniciou em torno de meia hora após o início da administração e apresentou duração em média de 12 horas, sendo este o sinal mais evidente nos ovinos. O ovino 1 não apresentou aerofagia e teve recuperação mais rápida, nos demais sinais clínicos evoluíram ao timpanismo (ovinos 3 e 4), recuperando-se logo após a sondagem com a eliminação do gás. Os animais que morreram (ovinos 5 e 6) foram os que mais apresentaram sinais relacionados à anoxia celular como apatia, taquicardia, taquipnéia, andar cambaleante, pulso jugular positivo, opistótono e mucosas cianóticas (Figura 2 B).

As necropsias dos ovinos 5 e 6 foram realizadas imediatamente após a morte. Macroscopicamente observaram-se as mucosas cianóticas e sangue de coloração marrom escura que não coagulou. Em todos os órgãos os vasos estavam marcadamente ingurgitados (Figura 2 C) por sangue de coloração marrom. Nos músculos, pulmões e no encéfalo observaram superfície amarronzada. No teste da difenilamina, realizado no conteúdo ruminal e na planta, verificou-se, em menos de 10 segundos, reação positiva para nitratos e nitritos (Figura 2 D), caracterizada pela formação de um halo azul em torno da amostra testada. No exame histopatológico não foram observadas lesões significativas.

Após a necropsia dos ovinos 5 e 6 e o teste de difenilamina positivo para nitratos e nitritos. O ovino 8 foi tratado com 4 mg/kg de uma solução de azul de metileno a 2% por via endovenosa, quando apresentava sinais de fraqueza muscular, aumento na frequência de micção e mucosas cianóticas. Depois de 30 minutos o animal já demonstrava recuperação clínica, e ingeriu água e capim. Em aproximadamente 12 horas após o tratamento o animal não apresentava alterações clínicas.

Durante o período experimental os parâmetros hematológicos e bioquímicos (AST e GGT) dos animais intoxicados estavam dentro dos parâmetros normais para a espécie.

Os valores da urinálise também se apresentaram dentro do normal. Na análise de fluido ruminal observou-se aumento no pH entre 8-9 e diminuição do número de infusórios médios e grandes em todos os animais.

Resultados dos testes com difenilamina em amostras de *P. oleracea*

Todas as 24 amostras resultaram fortemente positivas a prova de difenilamina obtendo-se coloração azul forte em menos de 10 segundos.

DISCUSSÃO

Os sinais clínicos e as lesões de necropsia observados na reprodução experimental da intoxicação por *P. oleracea*, semelhantes aos relatados nos casos espontâneos, assim como os resultados das provas de difenilamina e a recuperação dos animais intoxicados mediante a administração de azul de metileno comprovam que *P. oleracea* causa intoxicação por nitratos e nitritos em ovinos e caprinos. No Brasil, intoxicações por nitratos e nitritos foram diagnosticadas somente em bovinos alimentados com capim elefante (*Pennisetum purpureum*) e capim mandante (*Echinochloa polystachya*) (Medeiros et al. 2003) no estado da Paraíba e por aveia (*Avena sativa*) e/ou azevém (*Lolium spp*) no estado de Santa Catarina (Jönck et al. 2013).

Para a reprodução experimental em ovinos foi necessária administrar uma dose de 80 g de planta verde por kg de peso vivo, considerada dose elevada, sugerindo como ocorre em outras intoxicações por nitratos e nitritos, a ingestão de grandes quantidades da planta em curto período de tempo é um fator importante para a ocorrência da intoxicação (Poore et al. 2011). Outros fatores observados na intoxicação por nitratos e nitritos como a ocorrência da doença após períodos prolongados de estiagem e/ou em áreas com adubação orgânica (Fraser 1996), também estavam presentes em alguns dos surtos. Animais estressados, enfermos ou em má condição nutricional são mais suscetíveis à intoxicação por nitratos e nitritos (Robson 2003); esses fatores podem também haver estado presentes nos surtos de intoxicação na região Nordeste, onde é frequente a carência de forragem em consequência dos longos períodos de estiagem. Por outro lado, todas as amostras de *P. oleracea* testadas, coletadas tanto na seca quanto na chuva, apresentaram resultado marcadamente positiva na prova de difenilamina o que sugere que, pelo menos na região Nordeste, a planta é uma acumuladora de nitratos e nitritos independentes das condições ambientais e adubação do

solo.

A dificuldade respiratória, com dispneia e as mucosas cianóticas, consequentes da metahemoglobinemia, foram os sinais evidentes. Também foram observados sinais digestivos; a causa mais provável do timpanismo presente em dois animais é o relaxamento dos músculos lisos do trato gastrointestinal, incluindo o esôfago e os pré-estômagos, que podem ter a motilidade espontaneamente diminuída pelo efeito dos nitratos (Robertson & robertson 1996). Segundo Obied et al. (2003), além dos sinais digestivos, *P. oleracea* pode causar ação irritativa no trato digestivo, e também distúrbios urinários, levando a micções frequentes como observados nos animais experimentais deste estudo.

A intoxicação por nitratos e nitritos tem sido responsabilizada por causar abortos em ruminantes (Radostits et al. 2002). No surto oito, a ocorrência de aborto, sete dias após a intoxicação em uma das duas ovelhas em gestação intoxicadas e tratadas com azul de metileno, sugere que o aborto foi causado pela intoxicação. Neste caso sugere-se que a causa do aborto é a morte fetal por anóxia severa (Radostits et al. 2002).

Tanto os sinais clínicos quanto as alterações macroscópicas observadas neste trabalho foram semelhantes aos descritos na intoxicação por nitratos e nitritos em ovinos (Radostits et al. 2002), caprinos (Pugh 2004) e bovinos (Medeiros et al. 2003, Jönck et al. 2013). As mucosas cianóticas e o sangue e a musculatura escura são achados sugestivos de intoxicação por nitratos e nitritos, quando a necrópsia é realizada logo após a morte do animal. No entanto, deve ser considerado que algumas horas após a morte do animal a meta-hemoglobina retorna a hemoglobina, desaparecendo a coloração escura do sangue, carcaça e musculatura (Tokarnia et al. 2012). A ausência de lesões microscópicas também é descrita por outros estudos sobre intoxicação por nitratos e nitritos em ruminantes (Riet Alvariza 1993, Radostits et al. 2002, Medeiros et al. 2003, Tokarnia et al. 2012).

A recuperação durante o experimento de quatro ovinos, algumas horas após apresentarem os sinais clínicos, deve-se ao fato de que alguns animais podem tolerar até 50% de conversão da sua hemoglobina em meta-hemoglobina e somente quando a conversão é superior a 80% ocorre à morte (Robson 2003). Entre os ruminantes, os ovinos são mais eficientes na conversão de nitrito em amônia e por isso são menos suscetíveis à intoxicação do que os bovinos, o que possivelmente influencia na baixa ocorrência de intoxicações nesta espécie (Robson 2003).

CONCLUSÃO

Portulaca oleracea L. é uma planta que acumula nitratos e causa sinais clínicos da intoxicação por nitratos e nitritos em ovinos e caprinos na região semiárida do Nordeste brasileiro.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT) Para o Controle das Intoxicações por Plantas está sediado na Universidade Federal de Campina Grande, no Hospital Veterinário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Campus de Patos, no semiárido paraibano, com Processo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

COMITÊ DE ÉTICA

Os experimentos foram aprovados pela comissão de ética do CSTR conforme protocolo CEP n. 692013.

REFERÊNCIAS

- Everist S. L. 1974. Poisonous Plants of Australia (Angus and Robertson, Sydney).488 p.
- Fraser M.C. 1996. Manual Merck de Veterinária: Um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário. 7ª ed. Roca, São Paulo, p. 2048-2051.
- Feitosa F. L. F. 2008. Exame físico geral ou de rotina. In: Feitosa, F.L.F. Semiologia Veterinária: A arte do diagnóstico. 1ª ed. Roca, São Paulo, p 81-82.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2015. Disponível, http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza (Acesso em: 01/09/2015).
- Instituto Agrônomo de Pernambuco. 2012. Disponível em:<http://www.ipa.br/indice_pluv.php>Acesso: 29/06/2015
- Instituto Nacional de Meteorologia. 2016. Normais climatológicas. Disponível em:<<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=clima/normaisClimatologias>>(Acesso em: 29/04/2016).
- Jönck F., Gava A., Traverso S. D., Lucioli J., Furlan F. H., Gueller E. 2013. Intoxicação espontânea e experimental por nitrato/nitrito em bovinos alimentados com *Avena sativa*

- (aveia) e/ou *Lolium* spp. (azevém). Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro, v. 33, n. 9, p. 1062-1070.
- Kessell A. E., Boulton J., Krebs G. L., Quinn J. C. 2015. Acute renal failure associated with *Amaranthus* species ingestion by lambs. *Australian Veterinary Journal.*; 93(6):208–213. doi: 10.1111/avj.12331
- Kozloski V. G. 2009. Metabolismo microbiano. Bioquímica dos ruminantes. 1ª ed. UFSM, cap. 1, Santa Maria, p.5-19.
- Medeiros R. M. T., Riet-Correa F., Tabosa I. M., Silva Z. A., Barbosa R. C., Marques A. V. M. S., Nogueira F. R. B. 2003. 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. Disponível em: 01 de jul. 2014 <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100736X2003000100004&script=sci_arttext>. Acesso em: 5 jul. 2014.
- Moura M. S. B., Galvincto J. D., Brito L. T. L., Souza L. S. B., Sá I. I. S., Silva T. G. F. 2007. Clima e água de chuva no semiárido. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPATSA/36534/1/OPB1515.pdf>>. Acesso em: 01 maio. 2016.
- Obied W. A., Mohamoud E. N., and Mohamed O. S. A. 2003. *Portulaca oleracea* (purslane): nutritive composition and clinico-pathological effects on Nubian goats. *Small Ruminant Research.*, 48:31-36.
- Poore M., Green J., Rogers G., Spivey, K., Dugan, K. 2001 - Nitrate management in beef cattle production systems, <http://www.wvu.edu/~agexten/forglvst/Nitrdrot.htm>. Acesso em: 01 junho. 2016.
- Pugh D.G. 2004. Clínica de ovinos e Caprinos. 1ª.ed. Roca, São Paulo, p. 139-140.
- Radostits O.M., Gay C.C., Blood D.C. & Hinchcliff K.W. 2002. Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats. 9ª .ed. W.B. Saunders Philadelphia. p. 1472-1547
- Rahman M.M., Abdullah R.B., Wan Khadijah W.E., 2013. A review of oxalate poisoning in domestic animals: tolerance and performance aspects. *Jornal of Animal physiology and Animal Nutrition* 97:605-614.
- Riet Alvariza F. 1993. Intoxicación por nitratos y nitritos, In: Riet-Correa F., Méndez M.C. & Schild A.L. Intoxicaciones por Plantas e Micotóxicos em Animais Domésticos. Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur, Montevideo. p. 291-297, 340.
- Riet-Correa F., Bezerra, C. W. C., Medeiros, R. M. T. 2011. Plantas tóxicas do Nordeste. Patos – PB: Edição do Autor, p. 12-75.
- Robertson R. M., Robertson D. 1996. Drugs used for the treatment of myocardial ischemia. In Hardman JG, Linbird LR. (editors) Goodman and Gilman's, The Pharmacological Basis of Therapeutics. 9ª ed. Mc Graw-Hill, New York, p. 848.
- Robson S. 2003. Nitrate and nitrite poisoning in livestock, State of New South Wales, agfact A0.9.67 Department of Agriculture NSW. p. 1-3. Disponível em: http://www.dpi.nsw.gov.au/_data/assets/pdf_file/0006/111003/nitrate-and-nitrite-poisoning-in-livestock.pdf. Acesso 08 jul. 2014.
- Silva D. M., Riet-Correa F., Medeiros R. M. T. & OLIVEIRA O. F. 2006. Plantas tóxicas para ruminantes e eqüídeos no Seridó Ocidental e Oriental do Rio Grande do Norte. Pesquisa Veterinária Brasileira. v.26, n.4, p.223-236. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-736X2006000400007&script=sci_arttext>

Acesso em 02 jul. 2014.

Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. Plantas Tóxicas do Brasil. 2ª ed. Editora Helianthus, Rio de Janeiro, 566p.



Figura 1-) *Portulaca oleracea*, no município de Patos – PB.



Figura 2 – Intoxicação por *P. oleracea* em ovinos e caprinos – A) Caprino em decúbito esternal, depressivo e com timpanismo. B) Mucosas cianóticas do ovino experimental N°

6. C) Presença de vasos dilatados com sangue de cor marrom no abomaso. D) Teste da difenilamina. Reação positiva em menos de 10 segundos na *Portulaca oleracea*.

CAPÍTULO II: ACHADOS CLÍNICOS, TOXICOLÓGICOS E FATORES DE RISCO DA INTOXICAÇÃO POR NITRATOS E NITRITOS EM BOVINOS NA PARAÍBA, NORDESTE DO BRASIL

(Manuscrito submetido à Pesquisa Veterinária Brasileira)

Achados clínicos, toxicológicos e fatores de risco da intoxicação por nitratos e nitritos em bovinos na Paraíba, Nordeste do Brasil⁵

João G. Simões⁶, Robério G. Olinda^{7*}, Lisanka A. Maia⁸, Fabrício K.L. Carvalho⁹, Franklin Riet-Correa¹⁰, Rosane M.T. Medeiros¹¹ e Antônio F.M. Dantas⁷.

ABSTRACT. Simões J.G., Olinda R.G., Maia L.A., Carvalho F.K.L., Riet-Correa F., Medeiros R.M.T., Dantas A.F.M. 2016. [**Clinical and toxicological findings and risk factors of the intoxication by nitrates and nitrites in bovine in Paraíba, Northeast Brazil**]. Pesquisa Veterinária Brasileira 00(0): 00 - 00. Programa de Pós - graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos-PB. Avenida Universitária S/N -Bairro Santa Cecília - Patos/PB, CEP: 58708 -110, Brasil. E-mail: rgumes@hotmail.com

Two outbreaks of intoxication by nitrate and nitrite in Paraíba, northeast Brazil are reported. The first one was by *Pennisetum purpureum* (elephant grass), and the second one by *P. purpureum* and *Brachiaria* sp (brachiaria grass), which occurred during the period of prolonged drought. In the first one, the use of wastewater contributed in an effective way for the accumulation of nitrates. In the second one several risk factors such as the use of chemical fertilizers, herbicides, burning and the forages implanted on the reservoir's bed which presented a high quantity of organic matter, an area which was submerged during a

⁵ Recebido em...

Aceito para publicação em...

⁶ Médico Veterinário, Mestrando, Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (PPGMV), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos –PB. Avenida Universitária S/N -Bairro Santa Cecília -Patos/PB, CEP:58708 - 110, Brasil.

⁷ Médico Veterinário, Doutorando, Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (PPGMV), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos –PB. Avenida Universitária S/N -Bairro Santa Cecília -Patos/PB, CEP:58708 - 110, Brasil.

*Autor para correspondência, E-mail: rgumes@hotmail.com

⁸ Médica Veterinária, Doutora, Professora de Patologia Veterinária e Diagnóstico por imagem no Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia da Paraíba (IFPB).

⁹ Médico Veterinário, Doutor, Professor titular da disciplina de Patologia das Faculdades Integradas de Patos.

¹⁰ National Institute for Agricultural Research (INIA), La Estanzuela, CP 70.000, Colonia, Uruguay.

¹¹ Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária (UAMV), Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Av. Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB, 58700-970, Brasil.

long time. In the first outbreak there were deaths of four calves from a total of 42 bovines, in the second one 50 bovines died from a total of 243, including adults, young and a stillborn. The clinical signs are characterized by dyspnea, cyanosis of the ocular, oral and vaginal mucosa, ataxia and falls which evolved to death. The presence of nitrate was detected in both outbreaks by means of the diphenylamine test. The quantitative tests were carried out in the second outbreak by means of a portable nitrate meter and the high quantity of nitrates in the forages was verified, in the first outbreak the monitoring of the nitrate concentration with development of the pasture was carried out. The characteristic macroscopic findings, absence of microscopic lesions and response to the treatment with methylene blue were also decisive for the determination of intoxication by nitrate and nitrite. It is concluded that the risk of occurrence of intoxications by nitrates and nitrites in Paraíba is frequent, seen as there is the occurrence of risk factors, and there is a need for the dissemination of the diphenylamine test and also of the portable meter which is an excellent alternative for the quantification of nitrates in the suspicious pastures.

KEYWORDS: Nitrites; Wastewater; Diphenylamine, Portable meter; Methylene blue

RESUMO. Relatam-se dois surtos de intoxicação por nitrato e nitrito na Paraíba, Nordeste do Brasil. O primeiro por *Pennisetum purpureum* (capim elefante) e o segundo por *P. purpureum* e *Brachiaria* sp (capim braquiária) ocorridos durante o período de seca prolongada. No primeiro a utilização de águas residuais contribuiu de forma efetiva para o acúmulo de nitratos. No segundo vários fatores de risco como uso de adubos químicos, herbicidas, queimadas e as capineiras estavam plantadas no leito do açude que apresentava alta quantidade de matéria orgânica, área que ficou submersa por muito tempo. No primeiro surto ocorreram mortes de quatro bezerros de um total de 42 bovinos, no segundo morreram 50 bovinos entre adultos, jovens e um natimorto de um total de 243. Os sinais clínicos caracterizaram-se por dispneia, cianose na mucosa ocular, oral e vaginal, ataxia e quedas que evoluíam ao óbito. A presença de nitrato foi detectada nos dois surtos por meio do teste da difenilamina. Os testes quantitativos foram realizados no segundo surto por meio de medidor portátil de nitratos onde se verificou alta quantidade de nitratos. Os achados macroscópicos característicos e ausência de lesões microscópicas e a resposta ao tratamento com azul de metileno também foram decisivos para determinação de intoxicação por nitrato e nitrito. Conclui-se com embasamento nos resultados deste trabalho que o risco de ocorrência de intoxicações por nitratos e nitritos na Paraíba é

frequente já que existe ocorrência de fatores de risco e que o aparelho portátil é uma excelente alternativa para quantificação de nitratos nas pastagens suspeitas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Nitritos, águas residuais, difenilamina, medidor portátil, azul de metileno.

INTRODUÇÃO

No semiárido nordestino, as instabilidades pluviométricas causadas por fenômenos climáticos originam chuvas irregulares acarretando em algumas ocasiões escassez de recursos hídricos, tendo os valores médios de chuva inferiores a 800 mm anuais (Moura et al. 2007). Devido a esses eventos cíclicos de secas, os produtores têm utilizado como alternativa para formação e manutenção das pastagens cultivadas ou capineiras a irrigação. Em muitos casos não há orientações técnicas sobre o manejo das pastagens, assim como informações analíticas da qualidade da água usada para irrigação. Visto que geralmente a água é oriunda de açudes, barragens e poços (Araújo et al. 2011).

Uma das alternativas para produção de forragem é a irrigação com água de barragens, açudes, mas, diante dessa conjuntura da deficiência de recursos hídricos no Nordeste, essa situação se agrava onde a disponibilidade de água por habitante é ainda menor (Mota et al. 2007), atualmente tem sido introduzido à reutilização de água residual de origem sanitária municipal sem nenhum tratamento como forma de irrigar as capineiras ou pastagens. Essa utilização do esgoto diretamente no solo representa um dos sistemas mais antigos de disposição final de resíduos sanitários (Mara & Cairncross 1989).

A acumulação de nitrato na planta ocorre porque existe desequilíbrio entre a absorção e a assimilação desse elemento, e que quantidades exageradas são estocadas nos vacúolos (células vegetais) para serem assimiladas posteriormente (Andriolo 1999). Fatores ambientais podem levar a acumulação de nitratos, destacando-se a intensidade de radiação luminosa e a temperatura do ar (Mengel & Kirkby 1987). Em condições de seca quando as plantas estão imaturas, pode ocorrer aumento na concentração de nitrato (Aiello 2001), o rápido crescimento das plantas quando ocorrem chuvas após períodos de seca. Muitos pecuaristas têm utilizado águas residuais sem tratamento para irrigação, o que pode transformar a forragem de boa qualidade em extremamente tóxica (Al-Qudah 2009). A fertilização com adubos nitrogenados ou matéria orgânica de origem animal e tratamento das pastagens com herbicida ácido *diclorofenoxiacético* (2, 4-D) e derivados também podem induzir ao aumento da concentração de nitratos nas plantas (Radostits et al. 2002). A carência de molibdênio causa acúmulo de nitrato na planta, uma vez que esse nutriente é

um componente da enzima nitrato redutase, contribuindo desse modo na assimilação do nitrato pela planta (Andriolo 1999).

Na fisiopatogenia da intoxicação por nitratos/nitritos em ruminantes, o nitrato ingerido é transformado em nitrito no rúmen e depois em amônia (Kozloski 2009), entretanto, dependendo de diversos fatores, incluindo a concentração inicial de nitrato, flora ruminal, dieta, a conversão de nitrito em amônia é inadequada e o nitrato ingerido pode ser reduzido a nitrito no trato digestivo, causando absorção de nitrito pela corrente sanguínea e ao chegar oxida o ferro ferroso da hemoglobina transformando em ferro férrico, se une à hemoglobina formando metahemoglobinemia (Riet-alvariza 1993, Radostits et al. 2002, Tokarnia et al. 2012). A metahemoglobina é incapaz de carrear oxigênio para a respiração celular, o que leva à metahemoglobinemia, ocorrendo assim anóxia celular (Wright & Davison 1964, Van Zijderveld et al. 2011).

Os principais sinais clínicos observados na intoxicação por nitrato e nitrito, são sialorreia, bruxismo, cansaço, taquipneia ou dispneia progressiva, ataxia, tremores musculares, contração abdominal, andar cambaleante, mucosas cianóticas, sonolência, decúbito, relutância em se movimentar e crises convulsivas (Radostitis et al. 2002). A morte geralmente ocorre entre 1-10 horas (Medeiros et al. 2003).

Esse trabalho teve como objetivo investigar os surtos de intoxicação por nitratos e nitrito em pastagens de *Pennisetum purpureum* (capim elefante) e *Brachiaria* spp. (capim braquiária), ocorridos em 2013 e 2015, no estado da Paraíba, região Nordeste do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado o estudo retrospectivo, através do acompanhamento de surtos, em Patos-PB onde *Pennisetum purpureum* causou mortes de bezerros e em Cabaceiras-PB no qual o *P. purpureum* e *Brachiaria* sp causaram óbitos de bovinos em 2015. Os dados epidemiológicos, sinais clínicos foram obtidos durante visitas às propriedades. Foram necropsiados cinco animais, sendo coletados fragmentos de órgãos das cavidades torácicas, abdominal e sistema nervoso central, fixados em formol tamponado a 10%, processados rotineiramente para histopatologia e corados pela hematoxilina e eosina (HE).

A detecção de nitratos e nitritos nas pastagens foi realizada pela prova de difenilamina seguindo a metodologia de Riet alvariza (1993).

Em Cabaceiras-PB o material vegetal suspeito também passava pela quantificação dos teores de nitrato, por meio do medidor portátil equipado com microelétrodo seletivo para nitrato (Nitrate Meter Horiba - Cardy®) (Figura 1). Para isso, o aparelho foi calibrado com uma solução padrão, imediatamente após a colheita de seções transversais de caules, foram prensados para a obtenção de um ml de seiva, sendo colocada sobre o microelétrodo que emitiu o valor de nitrato em partes por milhão (ppm). Em Patos-PB e Cabaceiras-PB foi verificada a concentração de nitrato na água utilizada na irrigação. Em Patos-PB foi realizado o acompanhamento do desenvolvimento das pastagens irrigadas com águas residuais, com intuito de verificar se ocorria influência na acumulação de nitratos nas capineiras. Os dados pluviométricos foram coletados através da Agência Executiva de Gestão de Águas do Estado da Paraíba (AESAs).

RESULTADOS

O primeiro surto deste trabalho foi registrado no mês de maio de 2013 no município de Patos-PB. Do total de 42 bovinos, 20 eram vacas de leite e 22 bezerros. Seis bezerros adoeceram e quatro morreram, com evolução de aproximadamente 5 minutos, após a ingestão do capim por dois dias. Anteriormente, os animais eram alimentados com pasto nativo, mais devido à escassez de forragem, estavam sendo alimentados nos cochos com *Pennisetum purpureum*, cortados de uma área irrigada com água de rejeitos sanitários, além de adicionar esterco de bovinos e equinos para fertilização. Os sinais clínicos observados foram dispneia, cianose na mucosa ocular, oral e vaginal, ataxia e quedas que evoluíam ao óbito. Quatro bezerros foram submetidos ao exame de necropsia. Observou-se na mucosa ocular e vaginal coloração amarronzada, sangue com coloração escura (cor de chocolate) e a musculatura estava escura. Na superfície dos rins e do encéfalo também foram observados de coloração amarronzada. No rúmen havia grande quantidade de matéria verde (capim elefante) e exalava odor forte, sugestivo de gases nitrosos. Na microscopia não foram encontrados achados. O teste de difenilamina apresentou reação positiva, com coloração azulada forte em menos de dois minutos no sangue e no conteúdo ruminal. Dois bezerros intoxicados foram tratados com azul de metileno e se recuperaram.

Os surtos que ocorreram no município de Cabaceiras-PB, no período de abril a maio de 2015. De um total de 243 bovinos de leite (Quadro 1), morreram 49, sendo 36 adultos, 13 jovens (Quadro 1), e ocorreu um natimorto, que era fraco não demonstrava apetite e

morreu em dois dias após o nascimento. A vaca posteriormente morreu rapidamente após se alimentar de *P. purpureum*. Os animais eram distribuídos em sete propriedades, criados em sistema semi-intensivo que pastejavam na caatinga e recebiam forragem no cocho, composta predominantemente por *P. purpureum*, mas, também com a utilização de capim braquiária (*Brachiaria* sp.) em algumas situações. As capineiras se localizavam no açude de boqueirão.

Quadro 1 Surto de intoxicação por nitratos e nitritos em bovinos no município de Cabaceiras-PB, número de propriedades, de animais mortos e o total do rebanho.

| Propriedade | Número de animais mortos | | Nº total de animais por rebanho |
|-------------|--------------------------|---------|---------------------------------|
| | Jovens | Adultos | |
| 1 | - | 7 | 19 |
| 2 | 3 | 2 | 14 |
| 3 | 5 | 2 | 29 |
| 4 | 4 | 2 | 17 |
| 5 | 1 | 1 | 4 |
| 6 | - | 7 | 10 |
| 7 | - | 15 | 150 |
| Total | 13 | 36 | 243 |

Os bovinos de diferentes idades eram alimentados com capins de alto teor de nitratos e muitos animais foram afetados. Na primeira visita a propriedade onde ocorreu o primeiro surto, morreram sete bovinos de um total de 19 animais, com o fim da pastagem nativa o proprietário passou a utilizar capineiras, começaram a fornecer o capim braquiária (*Brachiaria* sp.) e capim elefante (*P. purpureum*) (Quadro 2), o alimento era picado pela forrageira e fornecido no cocho nos turnos da manhã e no final da tarde, no dia seguinte encontrou os animais mortos com abdômen distendido sem observação de sinais clínicos prévios. A morte dos animais sucedia entre 4 a 12 horas, após o consumo do capim.

Foi realizado a necrópsia de uma vaca. A morte ocorreu pela manhã, mas, os materiais só foram coletados pela tarde, muitas horas após o óbito e foram processados para realização do exame histopatológico. Não foram observadas alterações macro e microscópicas.

Em várias propriedades em Cabaceiras-PB, *P. purpureum* e *Brachiaria* sp., se apresentavam bem verdes e exuberantes, plantados no leito do açude que estava seco e as pastagens nos períodos secos eram irrigadas através de poços tubulares das proximidades. Os produtores relataram a ocorrência de casos de mortalidade em bovinos, sendo verificado o quadro epidemiológico e clínico que sugeriam se tratar de intoxicação por plantas. A área era dividida por 12 propriedades.

Os fatores epidemiológicos identificados como desencadeadores ou facilitadores do acúmulo de nitrato constituíram a área do açude submersa desde 2003 e que em dezembro 2014 secou completamente, grande quantidade de matéria orgânica e também restos de capins em decomposição as margens, porém, foram para o leito do açude, passaram a plantar *P. purpureum* das variedades verde, roxo e capim braquiária (*Brachiaria* sp.) (Figura 2: B, C) no leito do açude e irrigando já que não ocorreu o período de chuvas, foi verificada uma grande área de queimada com alta quantidade de cinzas (fertilizantes) e presença de esterco.

O produtor relatou que eram muito frequentes plantações de tomate (*Solanum lycopersicum*) e pimentão (*Capsicum annuum*), com a utilização de adubos e defensivos agrícolas (agrotóxicos) nas proximidades e que ocorre o uso de fertilizantes em seus solos há pelo menos 20 anos, sem seguir qualquer programa de fertilidade ou análise de solo.

Na segunda visita em Cabaceiras-PB foi observado o aumento das plantações de *Solanum lycopersicum* (tomate), *Capsicum annuum* (pimentão) e Feijão (*Phaseolus vulgaris*) nas proximidades (Figura 2, D), e com utilização de adubos e agrotóxicos o que aumentaria a quantidade de nitratos no solo, o motivo para utilização segundo produtores é necessário para o crescimento máximo das culturas.

O teste da difenilamina em Cabaceiras-PB demonstrou reação positiva em menos de 30 segundos com coloração azul escuro (Figura 2, A).

Quadro 2 Intoxicação espontânea por nitratos em Cabaceiras-PB, no período de estiagem, propriedades, tipo de forragem, teste qualitativo de difenilamina, teste quantitativo com medidor portátil em ppm

| Propriedade | Forragem | Teste da difenilamina | Medidor portátil (ppm) |
|-------------|-----------------------------|-----------------------|------------------------|
| 1 | <i>Brachiaria</i> spp. | Negativo | 500 |
| 2 | <i>Brachiaria</i> spp. | Positivo | 6600 |
| 3 | <i>P. purpureum</i> (Roxo) | Positivo | 9800 |
| 4 | <i>P. purpureum</i> (verde) | Positivo | 4700 |
| 5 | <i>P. purpureum</i> (verde) | Positivo | 5200 |
| 6 | <i>Sorghum vulgare</i> | Negativo | 2700 |
| 7 | <i>Brachiaria</i> spp. | Negativo | 1800 |
| 8 | <i>P. purpureum</i> (Roxo) | Positivo | 7300 |

No teste com medidor portátil de nitratos foram detectados níveis elevados no capim *Brachiaria* spp. (valor de 6600 ppm) na propriedade 2 e nos capins elefantes (*P. purpureum*), tanto na variedade roxa (variou de 7300-9800 ppm) quanto na verde (variou de 4700-5200 ppm) respectivamente (Tabela 2). Os níveis acima de 5000 ppm de nitrato não são seguros para consumo de bovinos (Haskell 2008).

Em Patos-PB foi verificado que o nível de nitrato era aumentado com a irrigação e reduzido com a maturidade da planta e sem irrigação. O Teste de difenilamina na forragem do surto de 2013 apresentou resultado positivo. Em 2014 na mesma área sem irrigação e adubação obteve reação negativa. Em 2014 na área recém-implantada com irrigação de águas residuais obteve reação positiva. O surto de Patos-PB ocorreu em maio de 2013, mas, os testes com medidor portátil foram realizados em junho de 2014 um ano depois, na área do surto o nível de nitrato estava variando de 2500 ppm a 1600 ppm e não ocorria irrigação com águas residuais desde da época do surto, sendo observado a diminuição da concentração de nitrato, já no campo recém estabelecido da mesma propriedade a capineira estava sendo irrigada com água residual (esgoto) sem nenhum tratamento, observou-se o acúmulo de nitrato em função da irrigação, os níveis estavam se elevando de 4100 ppm com 30 dias para 4500 ppm com 40 dias de plantio.

Na Paraíba os dados pluviométricos demonstraram a ocorrência de seca. Em Cabaceiras-PB no ano de 2015 ocorreram pequenas precipitações na estação chuvosa. Já

Patos-PB em 2013 ocorreram mais precipitações (Quadro 3), mas, abaixo da média normal (AESAs).

Quadro 3 Precipitações pluviométricas ocorridas nos municípios de Patos-PB em 2013 e Cabaceiras-PB em 2015.

| Cidade/Ano | Mês (mm ³) * | | | | | Resultado dos meses acumulados (mm ³) |
|--------------------|--------------------------|------|------|------|------|---|
| | Jan | Fev | Mar | Abr | Mai | |
| Patos-PB/ 2013 | 20,6 | 13,1 | 75,4 | 60,4 | 20,6 | 196,1 |
| Cabaceiras-PB/2015 | 0 | 12,2 | 1,5 | 7,6 | 20,8 | 41,3 |

*Dados obtidos junto a AESA – Agência Executiva de Gestão de Águas do Estado da Paraíba

O resultado da análise da água oriunda do esgoto de Patos-PB que irrigava a pastagem foi coletado em 2014 e revelou que existia alta quantidade de nitrogênio amoniacal e era de 45 ppm de nitrogênio, para converter para nitrato multiplica-se o valor por 4,43 e o resultado conferido foi de 199 ppm. Já em Cabaceiras-PB o resultado com o medidor portátil foi sete ppm de nitrato sendo considerado negativo.

Os produtores foram informados que o nitrato no alimento causava a intoxicação, como identificar sinais clínicos nos animais doentes. Sendo esclarecido que pode ocorrer morte súbita dentro de poucas horas depois do consumo dessas forragens. Em Patos-PB e Cabaceiras-PB foi comunicado a necessidade de tentar controlar a ingestão de novas pastagens com excesso de nitratos. A silagem seria uma alternativa para diminuir o nitrato nas forragens, que podem perder 40 - 60% de seu teor de nitrato durante a fermentação (Robson 2003). Os pecuaristas foram orientados sobre o protocolo de tratamento para a intoxicação por nitrato/nitrito, com a utilização de 4mg/kg de azul de metileno em uma solução de 2 a 4%, por via endovenosa nos animais com sintomas de intoxicação (Medeiros et al. 2003).

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

O diagnóstico de intoxicação por nitratos/nitritos envolvendo bovinos nos surtos na Paraíba foram baseados na análise de dados epidemiológicos, sinais clínicos característicos, identificação e quantificação do nitrato nas forragens. Em Patos-PB os

achados macroscópicos, ausência de lesões microscópicas, resposta ao tratamento com azul de metileno, a positividade da prova da difenilamina nas forragens, também são descritas por Tokarnia et al. (2012). Os resultados da alta quantidade de nitrato no teste com medidor portátil em Cabaceiras-PB indicaram que as capineiras apresentavam excesso de nitrato, segundo Haskell (2008) forragens que contenham menos que 5000 ppm de nitrato são geralmente seguras para o consumo por ruminantes.

A necropsia em Cabaceiras-PB foi realizada com mais de cinco horas depois da morte do bovino e ocorreu a reversão metahemoglobina em hemoglobina verificando-se o desaparecimento da coloração escura do sangue, da carcaça e da musculatura, dificultando o diagnóstico macroscópico esses dados estão de acordo com Tokarnia et al. (2012). Na histopatologia ausências de alterações microscópicas averiguadas em bovinos que morreram pelas intoxicações foram semelhantes às encontradas por outros autores (Radostits et al. 2002; Medeiros et al. 2003). O aspecto chocolate no sangue observado no momento da necropsia do surto de intoxicação por nitrato em Patos-PB é vista frequentemente nas intoxicações por nitritos, principalmente após a ingestão de plantas acumuladoras de nitratos esses achados também são informados por Tokarnia et al. (2012).

Um caso de natimorto foi registrado, essa evidência mostra que a vaca prenha sofreu intoxicação crônica, a ocorrência de natimortos ocorre quando as vacas se alimentam de doses subletais de nitrato, o sangue fetal assemelhar-se e apresentar maior afinidade por nitritos tal caso é confirmada similarmente em informações de outros estudos (Rosenberger 1975; Radostits et al. 2002).

A *Brachiaria* sp. apresentou nitratos que contribuíram para intoxicações em algumas propriedades, porém, existem vários fatores ambientais que influenciaram a acumulação de nitratos. A *Brachiaria radicans* pode conter altos teores de nitrato como afirma Tokarnia et al. (2012).

Em Patos-PB e Cabaceiras-PB diferentemente do que Medeiros et al. (2003), relata que a intoxicação ocorreu após as primeiras chuvas depois de um longo período de estiagem, nos dois surtos descritos neste trabalho, evidenciou que o fator que determinou a presença de níveis tóxicos nas plantas foi a ocorrência de irrigação durante um período de seca prolongada.

Em Patos-PB, a irrigação era realizada com água de resíduos sanitários do município sem tratamento e existiam galerias abertas em meio à plantação e adubação com

esterco de bovinos e equídeos, todos esses fatores geraram acúmulo de nitrato no *P. purpureum*.

O resultado da análise da água em Patos-PB revelou alta quantidade nitrogênio amoniacal, já em Cabaceiras-PB o resultado com o medidor portátil foi negativo. Segundo Torres et al. (1997), amônia posteriormente pode ser oxidada pela ação de bactérias nitrosomonas processo chamado de nitritação e o excesso oxidado para nitritos e, posteriormente, nitratos pelo processo de nitratação pelas bactérias Nitrobacter, Nitrocystis e Nitrospina. Pela portaria 518/04 do Ministério da Saúde o teor máximo de nitrato permitido para a água ser considerada potável é de 10 mg/L (Brasil 2004). Segundo Alqudah et al. (2009), em países que possuem regiões de escassez de água, comumente é utilizado a irrigação com águas residuais muitas vezes sem o monitoramento necessário.

Em Cabaceiras-PB fatores ambientais e antrópicos inter-relacionados contribuíram para os episódios de intoxicação incluindo seca, adubos químicos, herbicidas durante mais de duas décadas com ausência de orientação técnica e assim sem seguir qualquer programa de análise de solo, fertilidade e as margens do açude de Boqueirão. A utilização de herbicidas e adubos químicos também é relatada por Wright & Davison (1964) como fator predisponente ao acúmulo de nitratos nas plantas.

Outros fatores importantes que determinaram a alta concentração de nitratos nas plantas consistiram na fertilização do solo com alta quantidade de matéria orgânica, presenças de queimadas que geraram cinzas esses fatores também foram observadas por Whittier (2011). As capineiras foram plantadas no leito do açude boqueirão mesma situação relatada por Tokarnia et al. (2012) no surto de 1993 em Quixeramobim no Ceará.

O teste da difenilamina obteve resultado positivo nas forragens oferecidas aos bovinos em Patos-PB e Cabaceiras-PB. Mas, Segundo Steven (2007), além de verificar nitratos, o teste da difenilamina pode detectar hipoclorito, clorato, bromato, iodato, cromato, dicromato, permanganato, vanadato, chumbo e manganês. Portanto sendo capaz de ocasionar reações de falsos positivos e o material suspeito deve ser encaminhado para o laboratório. No trabalho de forma imediata o medidor portátil de nitrato foi empregado como ferramenta para monitorar a quantidade de nitratos, propiciando agilidade na análise, determinando com precisão a concentração no momento da medição. Os resultados mostram a importância que o uso dessa ferramenta tem no monitoramento do estado nutricional das plantas (Guimarães 1998).

O manejo de pastagens com a retirada da irrigação com águas residuais em diferentes estágios de desenvolvimento da planta ocasionou uma redução no teor de nitrato no *P. purpureum*. Já irrigação com águas residuais na capineira recém-implantada levou a um aumento crescente, corroborando com descrições de Al-Qudah (2009).

As intoxicações por nitratos/nitritos na Paraíba podem ser consideradas ascendentes e multifatoriais. A ocorrência de diagnóstico de novos surtos vem aumentando à medida que ocorre a divulgação da doença, testes que devem ser realizados e o tratamento preconizado.

Conclui-se com base nos resultados deste trabalho que o risco de ocorrência de intoxicações por nitratos/nitritos na Paraíba é frequente já que na região acontecem frequentes secas e existe uma demanda por material forrageiro para alimentar os animais, levando ao uso de irrigação com água residual e o uso indiscriminado de adubos, agrotóxicos em pastagens, são fatores que ajudam no acúmulo de nitrato nas pastagens e forragens. É necessário implantar medidas profiláticas e para evitar intoxicações. O aparelho portátil é uma importante alternativa para vigilância da situação da pastagem, permitindo a detecção das alterações dos níveis de nitrato presentes nas forragens ou pastagens.

REFERÊNCIAS

- AESA - Agência Executiva de Gestão das Águas do Estado da Paraíba. Precipitação pluviométrica mensal (mm), Janeiro de 2013 a maio de 2013 para o município de Patos-PB e de Janeiro de 2015 a maio de 2015 para o município de Cabaceiras-PB. Disponível em: < <http://www.aesa.pb.gov.br> >. Acesso em: 05.01.2016.
- Aiello S. E., Mays, A. 2001. Manual Merck de Veterinária. Um manual para o diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário. 8ªed. Roca. São Paulo. p. 18-21, 150-151, 360 -361.
- Al-Qudah K.M., Rousan and K. Ereifej. 2009. Nitrate / nitrite poisoning in dairy cattle associated with consumption of forages irrigated with municipally treated wastewater. *Toxicological & Environmental Chemistry*, Londres, v. 91, p. 163 -170.
- Andriolo J.L. 1999. Fisiologia das culturas protegidas. Santa Maria: UFSM. 142p.
- Araújo G.G.L., Voltolini T.V., Turco S.H.N., Pereira L. G. R. 2011. A água nos sistemas de produção de caprinos e ovinos. In: Voltolini, T. V. (Ed.). Produção de caprinos e ovinos no semiárido. Petrolina: Embrapa Semiárido. p. 69 - 90.
- BRASIL. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. Legislação para águas de consumo humano. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 26 de mar. 2004. Seção 1.
- Guimarães T.G. 1998. Nitrogênio no solo e na planta, teor de clorofila e produção do tomateiro, no campo e na estufa, influenciados por doses de nitrogênio. Viçosa: UFV, 184p.(Doutorado em Fitotecnia)
- Haskell S.R.R. nitrate and nitrite. 2008. In.: Blackwell's Five Minute Veterinary Consult: Ruminant. ed.1. Ames: Iowa/USA: Wiley-Blackwell, p.622.
- Kozloski G.V. 2009. Bioquímica dos ruminantes. 2. ed., Santa Maria, 216 p.
- Mara D., Cairncross S. 1989. Guidelines for the safe use of wastewater and excreta in agriculture and aquaculture: Measures for public health protection. Geneva: World Health Organization, 187 p.
- Medeiros R.M.T., Riet-Correa F., Tabosa I.M., Silva Z.A., Barbosa R.C., Marques A.V.M.S., Nogueira F.R.B. 2003. 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.
- Mengel K. & Kirkby E. A. 1987. Principles of plant nutrition. Bern, International Potash Institute, IPI, Bern, Switzerland, 685 - 687p.
- Mota S., Aquino M.D., Santos A.B. 2007. Reuso de águas em irrigação e piscicultura. Fortaleza: UFCE/Centro de Tecnologia, 350p.
- Moura M.S.B., Galvêncio J.D., Brito L.T.L., Souza L.S.B., Sá I.I.S., Silva T.G.F. 2007. Clima e água de chuva no semiárido. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPATSA/36534/1/OPB1515.pdf>>. Acesso em: 05 jan. 2015.
- Radostits O.M., Gay C.C., Blood D.C. & Hinchcliff K.W. 2002. Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats. Philadelphia: W.B. Saunders, 2002, 9ª .ed, p. 724-725.
- Riet-Alvariza F. 1993. Intoxicación por nitratos y nitritos. In: Riet-Correa F., Méndez M.C. & Schild A.L. (ed.) Intoxicaciones por Plantas e Micotoxinos em Animais Domésticos. Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur, Montevideo. p. 291-297.
- Robson S. 2003. Nitrate and nitrite poisoning in livestock, State of New South Wales, agfact A0.9.67 Department of Agriculture NSW. p. 1-3.

- Rosenberger G. 1975. Avvelenamenti, In: Ibid. (Ed.), Malattie del Bovino. Essegivi, Piacenza. p. 1120-1364.
- Steven B. Karch M.D, FFFLM. 2007. Postmortem toxicology of abused drugs, simple chemical tests, CRC Press, pag . 35.
- Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. Plantas Tóxicas do Brasil. 2ª ed. Editora Helianthus, Rio de Janeiro, 566p.
- Torres S., Aspé E., Mati M.C. 1997. Differential bacterial growth kinetic and nitrification of fisheries wastewaters containing high ammonium and organic matter concentration by using pure oxygen. *Biotechnology Letters*, Netherlands, v.19, n.3. p.241-244.
- Van Zijderveld S.M., Gerrits W.J.J., Dijkstra J., Newbold J.R., Hulshof R.B.A., Perdok H.B. 2011. Persistency of methane mitigation by dietary nitrate supplementation in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.94, p.4028-4038.
- Wright M.J., Davison K.L. 1964. Nitrate accumulation in crops and nitrate poisoning in animals. *Advances in Agronomy*, New York, v.16, p.197-274.
- Whittier J.C. 2011. Nitrate poisoning, Colorado state university extension, livestock series health. <http://extension.colostate.edu/docs/pubs/livestk/01610.pdf> Acessado em 2 janeiro de 2015.



Figura 1 medidor portátil de nitratos horiba

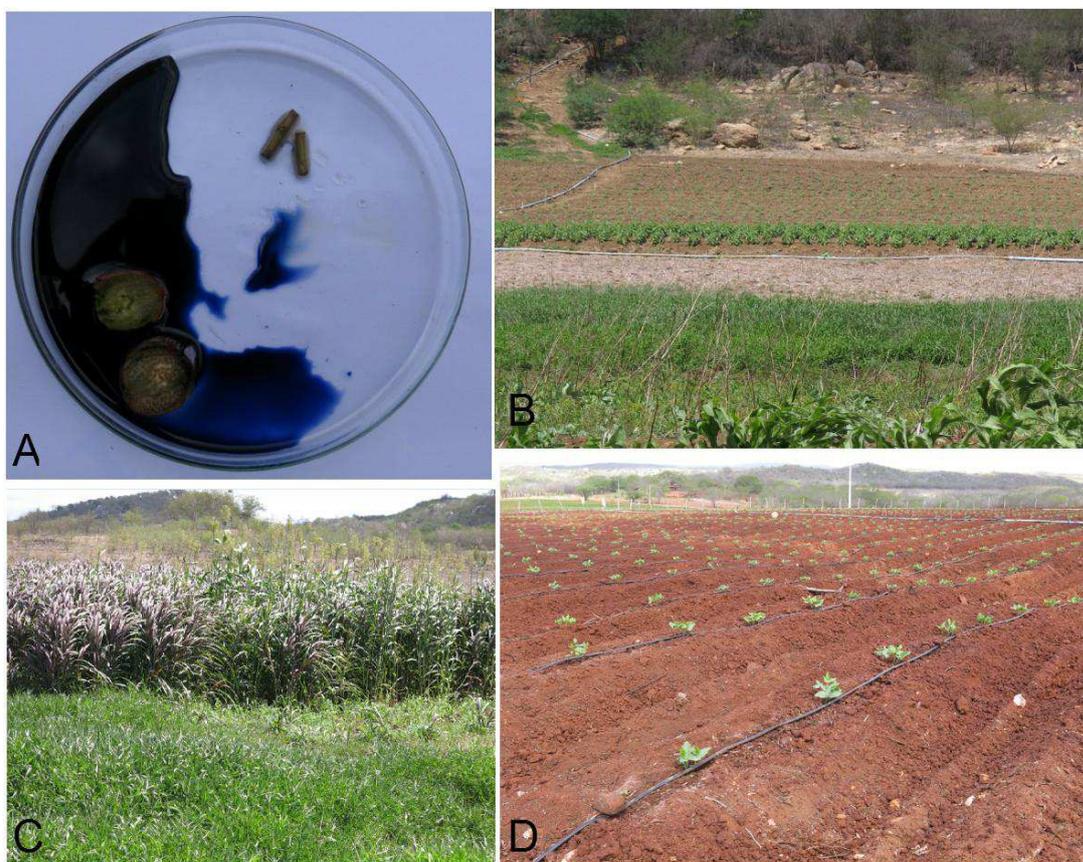


Figura 2 Fatores de risco para acúmulo de nitratos em forrageiras. A-) Teste da Difenilamina com reação positiva, B-) Plantações com fertilização e uso de defensivos, C-) capineiras de capim elefantes, braquiária, D-) introdução de plantações de feijão (*Phaseolus vulgaris*) com utilização de adubos e defensivos.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

A *P. oleracea* acumula nitratos e quando em níveis elevados tem potencialidade de originar intoxicações. O *P. purpureum* e *Brachiaria* spp quando expostos a fatores de risco como estações secas, períodos de estiagem seguidos de chuvas, irrigação com águas residuais, utilização de herbicidas e fertilizantes, plantio em leitos de rios ou barragens depois de longos períodos de alagamento, favorece o acúmulo de nitratos elevando o perigo de ocasionar intoxicações por nitratos/nitritos. Os sinais clínicos de intoxicação aguda por nitrato e nitrito são rápidos, sendo imprescindível a utilização de ferramentas de prevenção e de diagnóstico como teste de difenilamina e medidor portátil. O tratamento com azul de metileno nas intoxicações por nitratos/nitritos necessita de ampla divulgação.

ANEXOS

NORMAS PARA CONFECCÃO DOS CAPÍTULOS

CAPÍTULO I & CAPÍTULO II

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Os trabalhos para submissão devem ser enviados por via eletrônica, através do e-mail <jurgen.dobereiner@pvb.com.br>, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word e formatados de acordo com o modelo de apresentação disponível no site da revista (www.pvb.com.br). Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista.

Para abreviar sua tramitação e aceitação, os trabalhos sempre devem ser submetidos conforme as normas de apresentação da revista (www.pvb.com.br) e o modelo em Word (PDF no site). **Os originais submetidos fora das normas de apresentação, serão devolvidos aos autores para a devida adequação.**

Apesar de não serem aceitas comunicações (*Short communications*) sob forma de “Notas Científicas”, não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve, porém, conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo. Trabalhos sobre Anestesiologia e Cirurgia serão recebidos para submissão somente os da área de Animais Selvagens.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os trabalhos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (*peer review*).

NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista (impresa e online) e distribuição via correio é cobrada taxa de publicação (*page charge*) no valor de R\$ 250,00 por página editorada e impressa, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência.

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (ou combinação destes dois últimos), Agradecimentos e REFERÊNCIAS:

a) O **Título** do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) O(s) **Autor (es)** deve(m) sistematicamente encurtar os nomes, tanto para facilitar sua identificação científica, como para as citações bibliográficas. Em muitos casos isto significa manter o primeiro nome e o último sobrenome e abreviar os demais sobrenomes: Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto ou Peixoto P.V.; Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa ou Riet-Correa F.; Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva poderia usar Silvana M.M.S. Silva, inverso Silva S.M.M.S., ou

Silvana M.M. Sousa-Silva, inverso, Sousa-Silva S.M.M., ou mais curto, Silvana M. Medeiros-Silva, e inverso, Medeiros-Silva S.M.; para facilitar, inclusive, a moderna indexação, recomenda-se que os trabalhos tenham o máximo de 8 autores;

c) O **ABSTRACT** deverá ser apresentado com os elementos constituintes do RESUMO em português, podendo ser mais explicativos para estrangeiros. Ambos devem ser seguidos de “INDEX TERMS” ou “TERMOS DE INDEXAÇÃO”, respectivamente;

d) O **RESUMO** deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões. Nos trabalhos em inglês, o título em português deve constar em negrito e entre colchetes, logo após a palavra RESUMO;

e) A **INTRODUÇÃO** deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho;

f) Em **MATERIAL E MÉTODOS** devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores. Na experimentação com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local;

g) Em **RESULTADOS** deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. Quadros devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos (Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;

h) Na **DISCUSSÃO** devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

i) As **CONCLUSÕES** devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho;

j) **Agradecimentos** devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

k) A Lista de **REFERÊNCIAS**, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando-se os nomes de todos os autores, em caixa alta e baixa (colocando as referências em ordem cronológica quando houver mais de dois autores), o título de cada publicação e, abreviado ou por extenso (se tiver dúvida), o nome da revista ou obra, usando as instruções do “Style Manual for Biological Journals” (American Institute for Biological Sciences), o “Bibliographic Guide for Editors and Authors” (American Chemical Society, Washington, DC) e exemplos de fascículos já publicados (www.pvb.com.br).

2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as seguintes normas:

a) Os trabalhos devem ser submetidos **segundo o exemplo de apresentação de fascículos recentes da revista e do modelo constante do site sob “Instruções aos Autores” (www.pvb.com.br)**. A digitalização deve ser na fonte **Cambria, corpo 10, entrelinha simples**; a **página** deve ser **no formato A4, com 2cm de margens** (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das figuras e os Quadros no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras (inclusive gráficos) devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto.

Quando incluídos no texto do trabalho, devem ser introduzidos através da ferramenta “Inserir” do Word; pois imagens copiadas e coladas perdem as informações do programa onde foram geradas, resultando, sempre, em má qualidade;

b) A redação dos trabalhos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o trabalho; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada. Todos os Quadros e todas as Figuras serão mencionados no texto. Estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corridamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas.

c) **No rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores e o e-mail do autor para correspondência, bem como e-mails dos demais autores (para eventualidades e confirmação de endereço para envio do fascículo impresso);**

d) Siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso;

e) Citações bibliográficas serão feitas pelo sistema “autor e ano”; trabalhos de até três autores serão citados pelos nomes dos três, e com mais de três, pelo nome do primeiro, seguido de “et al.”, mais o ano; se dois trabalhos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos.

Trabalhos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, “(Resumo)” ou “(Apud Fulano e o ano.)”; a referência do trabalho que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, **não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano**; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exemplo: (Christian & Tryphonas 1971, Priester & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007);

f) A Lista das **REFERÊNCIAS** deverá ser apresentada **isenta do uso de caixa alta**, com os nomes científicos em itálico (grifo), **e sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista**, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. As Figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) **originais devem ser preferencialmente enviadas por via eletrônica**. Quando as fotos forem obtidas através de câmeras digitais (com extensão “jpg”), os arquivos deverão ser enviados como obtidos (sem tratamento ou alterações). Quando obtidas em papel ou outro suporte, deverão ser anexadas ao trabalho, mesmo se escaneadas pelo autor. Nesse **caso**, cada Figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte inferior da figura pela palavra “pé”. Os gráficos devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e

preto, sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da Figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura. Fotografias deverão ser apresentadas preferentemente em preto e branco, em papel brilhante, ou em diapositivos (“slides”). Para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope.

Na versão online, fotos e gráficos poderão ser publicados em cores; na versão impressa, somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras poderá ser em cores.

4. As legendas explicativas das Figuras conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, com independência do texto) e **serão apresentadas no final do trabalho.**

5. Os Quadros deverão ser explicativos por si mesmos e **colocados no final do texto.** Cada um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para grupamento de colunas. **Não há traços verticais. Os sinais de chamada serão alfabéticos, começando, se possível, com “a” em cada Quadro;** as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.