

## Experimentos com a polpa cítrica em ovinos e coelhos<sup>1</sup>

Carlos Hubinger Tokarnia<sup>2</sup>, Paulo Vargas Peixoto<sup>2</sup> e Bernardo R.M. Cunha<sup>3</sup>

**ABSTRACT.**- Tokarnia C.H., Peixoto P.V. & Cunha B.R.M. 2001. [Experiments with citrus pulp in sheep and rabbits] Experimentos com a polpa cítrica em ovinos e coelhos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 21(4):172-176. Projeto Sanidade Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851-970, Brazil. E-mail: tokarnia@ufrj.br

Citrus pulp was fed to sheep and rabbits in high doses and during long periods, in order to find an experimental model. The citrus pulp used in the experiments in sheep was the same used by a cattle breeder in Lorena, State of São Paulo, who lost out of a total of 56 lactating cows during a period of a few weeks 5 animals by a disease characterized histologically by granulomatous lesions. The 4 sheep used in the experiments received 800g/day/animal of this citrus pulp during 10 to 11 months. They were euthanized at the end of the experiment. None of the sheep showed the clinical-pathological picture of citrus pulp poisoning seen in cattle or other alterations. In the experiments in rabbits citrus pulp of two procedures were used. In one series (6 rabbits) the same citrus pulp was given as used in the experiments in sheep; in the other series (6 rabbits) the citrus pulp used in experiments in dogs, in which it caused granulomatous lesions, was given. The rabbits of the first series ingested an average of 51.5 g/day/animal; the rabbits of the second series ingested an average of 35.2 g/kg/animal of the citrus pulp. The rabbits were euthanized 2, 3, 6 and 12 months after the beginning of the experiments. None of the rabbits showed the clinical and pathological picture of citrus pulp poisoning or any other alterations.

INDEX TERMS: Experimental citrus pulp poisoning, sheep, rabbits.

**RESUMO.**- Ovinos e coelhos receberam em sua alimentação polpa cítrica em quantidades elevadas durante períodos prolongados, com a finalidade de estabelecer um modelo experimental. A polpa cítrica para os experimentos realizados nos ovinos era a mesma usada por criador do município de Lorena, SP, que perdeu 5 de um total de 56 vacas em lactação, em um período de poucas semanas; a doença caracterizava-se histologicamente por lesões granulomatosas. Os 4 ovinos usados nos experimentos receberam 800g/dia/animal desta polpa cítrica durante 10 a 11 meses. Nenhum dos ovinos mostrou o quadro clínico-patológico da intoxicação pela polpa cítrica observado nos bovinos ou outras alterações. Nos experimentos com os coelhos foi usada polpa cítrica de duas procedências. Na primeira série de experimentos com 6 co-

elhos foi usada a mesma polpa cítrica dos experimentos com os ovinos; na segunda série de experimentos com mais 6 coelhos utilizou-se a polpa cítrica que causou lesões granulomatosas em cães. Os coelhos da primeira série ingeriram em média 51,5 g/dia/animal, os da segunda série em média 35,2 g/dia/animal da polpa cítrica. Os coelhos foram sacrificados 2, 3, 6 e 12 meses após o início dos experimentos. Nenhum dos coelhos mostrou o quadro clínico-patológico da intoxicação pela polpa cítrica ou outras alterações.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Polpa cítrica, intoxicação experimental, ovinos, coelhos.

### INTRODUÇÃO

No Brasil, como também em outros países, a polpa cítrica vem sendo amplamente utilizada na alimentação de bovinos, em especial de vacas leiteiras. A ingestão de quantidades significativas da polpa cítrica (aprox. 3 kg diários ou mais), por períodos de mais de 2 meses, tem sido responsabilizada por uma enfermidade que afeta sobretudo vacas de alta produtividade (mais de 20 l/dia), caracterizada por febre, dermatite, anemia acentuada e hemorragias. A evo-

<sup>1</sup>Aceito para publicação em 16 de outubro de 2001.

<sup>2</sup>Depto Nutrição Animal e Pastagem, Inst. Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), 23835-000 Seropédica, RJ. E-mail: tokarnia@ufrj.br

<sup>3</sup>Postgraduando em Patologia Animal, UFRRJ.

lução da enfermidade pode variar de 24 horas a alguns dias; a morbidade é baixa, porém a mortalidade é elevada. Histologicamente, observa-se infiltração inflamatória granulomatosa com presença de células gigantes em diversos tecidos (Gava et al. 1999).

Os primeiros estudos sobre a doença causada pela polpa cítrica peletizada, no Brasil, foram efetuados no município de Castro, Paraná, em 1994 (Gava et al. 1996). Posteriormente, a doença foi estudada também em outras regiões, principalmente nos Estados de Minas Gerais e São Paulo (Barros 1995, Gava 1999). Tivemos oportunidade de examinar materiais provenientes de bovinos dos Estados de São Paulo (município de Lorena em 1998/99) e Rio de Janeiro (municípios de Valença em 1998 e Quatis em 2000) e encontramos as lesões granulomatosas descritas para esta intoxicação.

Diversas substâncias tem sido incriminadas como determinantes do quadro clínico-patológico. Inicialmente, Griffiths & Done (1991) responsabilizaram a citrinina. Há algum tempo demonstrou-se a presença de dioxina em algumas partidas de polpa cítrica, porém, mais tarde, verificou-se que se tratava de contaminação do calcáreo usado na peletização, sem qualquer relação com o quadro clínico-patológico em foco (Greenpeace 1999). É muito interessante a observação de que a ingestão de ervilhaca (*Vicia villosa*) em bovinos pode induzir a uma enfermidade com quadro clínico-patológico muito semelhante (Panciera et al. 1966, Burroughs et al. 1983, Peet & Gardner 1986) ao que foi reproduzido experimentalmente com esta planta (Panciera et al. 1992). Também no Brasil, a identidade entre os quadros clínico-patológicos observados nas intoxicações por ervilhaca e por polpa cítrica tem sido verificada (Gava 2000).

Quadros clínico-patológicos diferentes do acima descrito têm sido atribuídos à polpa cítrica; ao que tudo indica esses surtos não foram causados propriamente pela ingestão da polpa, mas sim por contaminantes, como é o caso do diacetoxiscirpenol (Galhardo et al. 1997, Bracarense et al. 1999).

Um exame mais acurado na literatura mais remota revela que enfermidades semelhantes têm sido descritas, sem suspeita da causa (Breukink et al. 1978, Matthews & Shreeve 1978) ou atribuídas a micotóxicoses (Albright et al. 1964, Petrie 1977), infecção por fungo (Andrews et al. 1983), infecção geral (Turner et al. 1978), processos alérgicos e até ingestão de silagem (Thomas 1978, 1979, Holden 1980).

Saunders et al. (2000), aparentemente estudando o mesmo surto de mortandade em bovinos investigado por Pollak et al. (1998), em que foi levantada a suspeita de ter sido causada pela alimentação com polpa cítrica, dizem que o princípio tóxico é desconhecido, mas como na intoxicação pela ervilhaca, o caráter da inflamação nos órgãos sugere reação de hipersensibilidade do tipo IV; a lectina estaria atuando como imuno-estimulante. Dizem Saunders et al. (2000), que a polpa cítrica é conhecida por apresentar atividade lectínica vista pela aglutinação dos glóbulos vermelhos do sangue, mas que sua potencialidade em produzir uma reação de hipersensibilidade em animais não tem sido examinada.

No Brasil, foram realizados alguns experimentos com a

polpa cítrica em bovinos com a finalidade de reproduzir a doença. Assim Gava tentou, em 1994, reproduzir a intoxicação no Estado do Paraná, administrando a polpa cítrica (6kg/dia), durante 3 semanas, a vacas de alta produção leiteira, sem no entanto consegui-la (Gava 1996).

Em 1995, em Santa Maria, Rio Grande do Sul, Barros também tentou reproduzir a intoxicação administrando a vacas, com uma produção média de leite de 8 litros/dia/vaca, durante 4 meses, 6 kg de polpa cítrica por dia por vaca. Nenhum animal adoeceu. (Barros 1995)

Gava et al., em 1998 e 1999, conduziram 4 séries de experimentos com a polpa cítrica peletizada, em quatro lotes de vacas de alta produção de leite e novilhas, compreendendo um total de 24, 15, 45 e 25 animais. Utilizando dietas que continham de 3 a 7 kg de polpa cítrica/animal/dia e diferentes concentrações de zinco e cálcio, reproduziram a doença em uma vaca da primeira série e em outra vaca da terceira série, que receberam respectivamente 6 e 7 kg de polpa cítrica/animal/dia. Os resultados das análises das amostras de soro sanguíneo e fezes, referentes às quantidades de zinco e cálcio, ainda estão em fase de interpretação. (Gava 2000)

O presente trabalho experimental foi realizado com a finalidade de estabelecer modelos experimentais para estudos com polpa cítrica. Os experimentos consistiram na inclusão de polpa cítrica na alimentação de ovinos e coelhos, durante períodos prolongados, em quantidades elevadas de partidas que causaram problemas de saúde em outras espécies animais.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nas instalações do Projeto Sanidade Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ.

A polpa cítrica para os experimentos realizados nos ovinos era a mesma usada por criador do município de Lorena, SP, que perdera 5 de um total de 56 vacas em lactação, dentro de um período de poucas semanas, pela doença confirmada através de exames histológicos em um destes animais.

Foram utilizados seis ovinos adultos, que eram mantidos em compartimentos individuais. Quatro desses animais (Ov. N1 a N4) receberam diariamente 800 g da polpa cítrica granulada, mais 100 g de ração comercial granulada, capim picado e água à vontade. Sempre comeram toda polpa cítrica avidamente sem deixar restos. Os dois outros animais (Ov. T5 e T6) serviram como controles e receberam diariamente 200 g de ração comercial granulada e capim picado à vontade. Diariamente, durante 2 horas na parte de manhã permaneciam em um cercado sem vegetação. Mensalmente os animais eram pesados. Após 10 a 11 meses desde o início do experimento, os ovinos foram sacrificados para verificação de lesões macroscópicas e histológicas. (Quadro 1)

Do total de 16 coelhos adultos, seis (Coelhos N1 a N6) receberam a mesma polpa cítrica que os ovinos receberam; os outros seis (Coelhos M1 a M6) receberam a polpa cítrica que causou lesões granulomatosas em cães (Peixoto & Malafaia 1999). Outros quatro animais (Coelhos T1 a T4) serviram como controles. Nos primeiros dias do experimento verificou-se que os coelhos não comiam bem a polpa cítrica granulada pura, ao contrário dos ovinos. A polpa cítrica foi então moída e misturada com ração para coelhos também moída. Esta mistura também não foi bem aceita pelos coelhos. Em seguida, após poucos dias, foram dados para cada coelho

Quadro 1. Delineamento dos experimentos em ovinos com a polpa cítrica (800 g/dia/animal) procedente de Lorena, SP

Ovino no. Reg. SAP	Sexo	Peso no início do experimento (kg)	Peso no fim do experimento (kg)	Data do início do experimento	Data da necropsia	Observações
N 1 (5552) 29006-11	Fêmea	28	34	21.03.99	07.02.00	Em 12.09.99 deu cria a uma fêmea
N 2 (5553) 29019-24	Fêmea	28	31	24.03.99	22.02.00	Em 08.10.99 deu cria a duas fêmeas
N 3 (5554) 29037-42	Macho	19	56	28.03.99	06.03.00	
N 4 (5555) 29012-17	Fêmea	30	37	28.03.99	07.02.00	Em 07.09.99 deu cria a um macho
N 5 (5556) 29025-29 Controle	Fêmea	25	38	21.03.99	22.02.00	Em 19.07.99 deu cria fraca, que morreu em 21.07.99
N 6 (5557) 29043-48 Controle	Macho	23	37	21.03.99	06.03.00	

Quadro 2. Delineamento dos experimentos em coelhos com a polpa cítrica procedente de Lorena, SP

Ovino no. Reg. SAP	Peso no início do experimento (kg)	Peso no fim do experimento (kg)	Data do início do experimento	Data da necropsia	Consumo médio da polpa cítrica (g/dia)
N 5 (1362) 28863/64	2870	3530	22.01.99	28.07.99	59,2
N 6 (1363) 28865/66	2620	3270	22.01.99	28.07.99	46,5
T 4 (1361) 28867/68	2720	3740	22.01.99	28.07.99	(Controle)
N 1 (1354) 29031	2030	2820	18.12.98	25.01.00	39,0
N 2 (1355) 29032	2760	3680	18.12.98	25.01.00	59,7
N 3 (1356) 29033	2700	3350	18.12.98	25.01.00	46,3
N 4 (1361) 29034	2800	3470	22.01.99	25.01.00	58,3
T 2 (1358) 29035	2750	4030	18.12.98	25.01.00	(Controle)
T 3 (1359) 29036	2370	3530	18.12.98	25.01.00	(Controle)
Média					51,5

diariamente 100 g da polpa cítrica granulada e 50 g de ração para coelhos também granulada, misturados. Esta mistura foi aceita pelos coelhos, e então adotada para os experimentos. Os coelhos sempre deram preferência à ração granulada e em seguida comeram quantidades variáveis da polpa cítrica granulada. Diariamente, pela manhã, o resto da polpa cítrica que cada coelho deixava, era pesado e se dava nova mistura como acima especificado. Os coelhos-controles receberam somente ração granulada para coelhos (150 g por coelho/dia). Todos coelhos foram sacrificados para verificação de alterações macroscópicas e microscópicas, entre 2 e 12 meses após o início do experimento. Todos os coelhos eram pesados de

10 em 10 dias até o fim de julho de 1999, depois mensalmente. (Quadro 2)

## RESULTADOS

Os principais dados sobre o delineamento dos experimentos em ovinos constam no Quadro 1.

Nenhum dos quatro ovinos que receberam a polpa cítrica, adoeceu. As três fêmeas que receberam a polpa cítrica, deram nascimento a crias normais durante o experimento.

À necropsia constatou-se em três (Ov. 5552, 5553, 5554) dos

Quadro 3. Experimentos em coelhos com a polpa cítrica procedente de Lorena, SP. Consumo da polpa cítrica por mês e peso do coelho no fim de cada mês (g)

	Coelho N 1	Coelho N2	Coelho N 3	Coelho N 4	Coelho N 5	Coelho N 6
1º mês	18,6 - 2190	38,8 - 2910	25,6 - 2800			
2º mês	36,7 - 2310	52,5 - 2980	38,2 - 2770	35,5 - 2800	37,5 - 2900	24,2 - 2650
3º mês	35,4 - 2390	55,4 - 3130	47,5 - 2910	55,0 - 2880	51,6 - 2930	36,9 - 2730
4º mês	33,0 - 2600	52,5 - 3230	43,8 - 3010	63,2 - 3140	55,3 - 3110	42,7 - 2920
5º mês	43,5 - 2730	62,5 - 3390	57,4 - 3200	75,6 - 3380	64,3 - 3270	54,3 - 3090
6º mês	48,8 - 2810	74,5 - 3490	60,9 - 3240	81,6 - 3520	69,3 - 3450	57,5 - 3240
7º mês	45,4 - 2830	73,7 - 3510	59,8 - 3300	85,6 - 3670	69,1 - 3420	56,6 - 3270
8º mês	48,3 - 2870	71,6 - 3570	57,2 - 3660	71,2 - 3810	67,0 - 3530	51,0 - 3270
9º mês	44,1 - 2870	70,6 - 3660	48,3 - 3350	62,9 - 3900		
10º mês	47,9 - 2880	70,0 - 3690	44,6 - 3390	50,9 - 3720		
11º mês	43,0 - 2870	63,5 - 3670	44,6 - 3360	24,0 - 3360		
12º mês	29,6 - 2780	50,0 - 3700	39,8 - 3430	47,4 - 3450		
13º mês	33,2 - 2820	41,1 - 3680	35,0 - 3350	43,3 - 3470		

Quadro 4. Delineamento dos experimentos em coelhos com a polpa cítrica usada em cães

Ovino no. Reg. SAP	Peso no início do experimento (kg)	Peso no fim do experimento (kg)	Data do início do experimento	Data da necropsia	Consumo médio da polpa cítrica (g/dia)
M1(1351) 28784	2300	2600	18.12.98	19.03.99	37,3
M2(1352) 28785	2520	3360	18.12.98	19.03.99	53,1
M3(1353) 28786	2400	2800	18.12.98	19.03.99	43,5
T1(1357) 28787	2720	3510	18.12.98	19.03.99	(Controle)
M4(1336) 28789	3970	3710	22.01.99	23.03.99	26,9
M5(1338) 28790	4900	4050	22.01.99	23.03.99	26,9
M6(1360) 28791	2820	2680	22.01.99	23.03.99	23,8
Média					35,2

Quadro 5. Experimentos em coelhos com a polpa cítrica usada em cães. Consumo da polpa cítrica por mês e peso do coelho no fim de cada mês (g)

	Coelho M 1	Coelho M 2	Coelho M 3	Coelho M 4	Coelho M 5	Coelho M 6
1º mês	36,2 - 2510	46,4 - 2910	35,9 - 2520			
2º mês	37,4 - 2620	52,4 - 3210	45,9 - 2690	21,6 - 3820	18,3 - 4470	21,1 - 2720
3º mês	38,1 - 2600	60,0 - 3360	46,5 - 2800	32,3 - 3780	34,8 - 4230	37,0 - 2800
4º mês				20,0 - 3710	25,0 - 4050	13,3 - 2680

quatro ovinos que receberam a polpa cítrica, muita gordura (sebo). Duas (Ov. 5552, 5553) das fêmeas apresentaram os ossos frágeis. Nos dois ovinos controle não foi verificada gordura excessiva, nem ossos frágeis. Os exames histopatológicos não revelaram alterações dignas de nota; não foram observadas alterações no metabolismo ósseo (absorção e formação óssea).

Os principais dados sobre o delineamento dos experimentos em coelhos da primeira e segunda série constam nos Quadros 2 e 4, respectivamente. O consumo da polpa cítrica

e o peso dos coelhos da primeira e segunda séries, constam nos Quadros 3 e 5, respectivamente.

Nenhum dos 12 coelhos que receberam a polpa cítrica adoeceu. À necropsia e também nos exames histopatológicos não foram constatadas alterações dignas de nota.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Nos experimentos realizados com quantidades relativamente elevadas de polpa cítrica (800g/dia/por animal para os

ovinos e médias de 51,5 e 35,2 g/dia por animal para os coelhos da primeira e segunda séries, respectivamente) não foi possível provocar alterações clínico-patológicas em ovinos e coelhos.

As variações do peso dos coelhos que comeram a polpa cítrica em nossos experimentos, devem ser atribuídas ao maior ou menor consumo da polpa cítrica. Os coelhos quase sempre comeram os 50 g da ração peletizada, mas as quantidades de polpa cítrica ingeridas variaram muito.

É provável que os ovinos e os coelhos sejam menos sensíveis que os bovinos ao efeito tóxico da polpa cítrica.

**Agradecimentos** - Ao Prof. Célso Pilati, do Laboratório de Patologia Animal, CAV, Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), pelo exame histológico do tecido ósseo dos ovinos.

## REFERÊNCIAS

- Albright J.L. et al. 1964. Moldy corn toxicosis in cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 144:1013-1019.
- Andrews A.H., Longstaffe J.A. & Newton A.C. 1983. Acute fatal haemorrhagic syndrome in dairy cows. Vet. Rec. 112:614.
- Barros C.S.L. 1995. Comunicação pessoal (Univ. Fed. Santa Maria, RS).
- Bracarense A.P.F.R.L., Faria dos Reis A.C., Netto D.P. & Alfieri A.A. 1999. Enterite necrótica e hemorrágica em bovinos leiteiros na região de Londrina-PR, alimentados com polpa cítrica. 9<sup>a</sup> Enapave, Belo Horizonte, p. 127. (Resumo)
- Breukink H. J., Gruys E., Holzhauer C. & Westenbroek A.C.J.M. 1978. Pyrexia in dairy cows. Vet. Rec. 103:221-222.
- Burroughs G.W., Nesor J.A., Kellerman T.S. & Van Niekerk F.A. 1983. Suspected hybrid vetch (*Vicia villosa* crossed with *Vicia dasycarpa*) poisoning of cattle in the Republic of South Africa. J. South African Vet. Assoc., June: 75-79.
- Galhardo M., Birgel Jr E.H., Soares L.M.V., Furlani R.P.Z. & Birgel E.H. 1997. Intoxicação por diacetoxiscispermol em bovinos alimentados com polpa de laranja no Estado de São Paulo. XXV Congr. Bras. Med. Vet., Gramado, RS, p. 129. (Resumo)
- Gava A. 2000. Comunicação pessoal (UDESC, Lages).
- Gava A., Barros C.S.L., Sousa R.S. & Traverso S.D. 1999. Polpa cítrica como causa de mortalidade em bovinos no Brasil. 9<sup>a</sup> Enapave, Belo Horizonte, p. 76. (Resumo)
- Gava A., Grade G., Menarin D. & Solack J. D. 1996. Síndrome hemorrágico-pruriginosa em bovinos. Anais I Encontro de Laboratórios de Diagnóstico Veterinário do Cone Sul, Campo Grande, MS, 20 a 24 de maio, p. 129-130.
- Greenpeace 1999. Relatório Greenpeace sobre a contaminação de leite e ração na Europa com dioxinas provenientes da empresa Solvay do Brasil. 6 p. Greenpeace.brazil@dialb.greenpeace.org.
- Griffiths I.B. & Done S.H. 1991. Citrinin as a possible cause of the pruritus, pyrexia, hemorrhagic syndrome in cattle. Vet. Rec. 129:113-117.
- Holden A.R. 1980. Two outbreaks of pyrexia with dermatitis in dairy cows. Vet. Rec. 106:413-414.
- Matthews J.G. & Shreeve. 1978. Pyrexia/pruritus/haemorrhagic syndrome in dairy cows. Vet. Rec. 103:408-409.
- Panciera R.J., Johnson L. & Osburn B.I. 1966. A disease of cattle grazing hairy vetch pasture. J. Am. Vet. Med. Assoc. 148(7):804-808.
- Panciera R.J., Mosier D.A. & Ritchey J.W. 1992. Hairy vetch (*Vicia villosa* Roth) poisoning in cattle: update and experimental induction of disease. J. Vet. Diagn. Invest. 4:318-325.
- Peet R.L. & Gardner J.J. 1986. Poisoning of cattle by hairy or woolly-pod vetch, *Vicia villosa* subspecies *dasycarpa*. Aust. Vet. J. 63(11):381-382.
- Peixoto P.V. & Malafaia P. 1999. Dados não publicados (Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro).
- Petrie L. 1977. The identification of T-2 toxin and its association with a haemorrhagic syndrome in cattle. Vet. Rec. 101:326.
- Pollak E., Freels K., Hutchins T., Wilkes R., Saunders G. & Blodgett D. 1998. Systemic hemorrhagic and granulomatous disease in cows fed citrus pulp. 49th Annual Meeting Am. College Vet. Pathologists, St. Louis, Missouri, Nov. 15-20. Abstract no. 78 publ. in Vet. Path. 35(5):436.
- Saunders G.K., Blodgett D.J., Hutchins T.A., Prater R.M., Robertson J.L., Friday P.A. & Scarratt W.K. 2000. Suspected citrus pulp toxicosis in dairy cattle. J. Vet. Diagn. Invest. 12:269-271.
- Thomas G.W. 1978. Pyrexia with dermatitis in dairy cows. Vet. Rec. 102:368.
- Thomas G.W. 1979. Pyrexia with dermatitis in dairy cows. Practice 1:16-18.
- Turner S. J. Kelly D.F. & Spackman D. 1978. Pyrexia with dermatitis in dairy cows. Vet. Rec. 102:488-489.