

**Estudo experimental sobre a intoxicação de *Gallus gallus domesticus*
com sementes de *Crotalaria spectabilis*.**

II - Efeito em aves na fase final de crescimento

(Poisoning of broilers by *Crotalaria spectabilis*. II - Experimental study on birds during the final phase of growth)

M.R. Hatayde¹, A.C. Alessi¹, A. Berchieri-Junior¹
M.B. Cafe², S.M. Curtarelli¹

¹UNESP - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Rodovia Carlos Tonanni, Km 5
14870-000 - Jaboticabal, SP

²Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO

RESUMO

Frangos de corte de linhagem comercial com idade de 28 dias foram tratados durante três semanas com ração acrescida de sementes trituradas de *C. spectabilis* em concentrações de 0,0% (controle), 0,01%, 0,1% e 0,4%. Aves alimentadas com ração com 0,4% de sementes mostraram, a partir da segunda semana de tratamento experimental, penas eriçadas, apatia, caquexia, tristeza, abaulamento do abdômen e agrupamento. Na última semana houve morte de quatro animais. Ao final do período experimental constatou-se reduzido desenvolvimento, ascite pronunciada e lesões principalmente de fígado, rim e pulmão. A histopatologia mostrou graves lesões hepáticas constituídas por necrose de hepatócitos, infiltrado celular inflamatório, hipertrofia e hiperplasia de células de ductos biliares, com atresia e colestase. Observou-se ainda pulmões com grande número de nódulos ósseos e cartilagosos, alterações degenerativas tubulares de rim e necrose de células da bursa. De forma semelhante, todas as aves do grupo tratado com 0,1% de sementes mostraram ascite. Foram freqüentes também as lesões hepáticas, embora sempre leves. Os grupos tratados com 0,01% de semente e controle não apresentaram lesões. Conclui-se que aves de linhagem comercial de corte, mesmo em fase final de crescimento, são sensíveis à presença de *C. spectabilis* na ração. A ocorrência de ascite em todos os animais dos grupos tratados com 0,1% e 0,4% foi considerada importante, assim como a presença de maior número de nódulos ósseos e cartilagosos pulmonares.

Palavras-chave: *Crotalaria spectabilis*, intoxicação, ascite, frango de corte

Recebido para publicação em 28 de junho de 1996

ABSTRACT

This study was undertaken to investigate the toxic effect of *Crotalaria spectabilis* seeds added to the ration for commercial broilers during the final phase of growth. Ground seeds were added at different concentrations to the ration: 0.0% (control), 0.01%, 0.1% and 0.4%. Rations containing 0.4% caused symptoms of intoxication, beginning in the second week of the study. During the third week birds showed bristling, apathy, general weakness, distended abdomen and agglomeration. In the fourth week, four animals died. Necropsy revealed prominent ascites and severe lesions of liver, kidney and lung. Microscopic examination revealed necrosis of hepatocytes, inflammatory cell infiltration, hypertrophy and hyperplasia of biliary duct cells leading to atresia and cholestasis. Prominent cartilaginous and osseous nodules in the lungs were also present as well as degenerative changes in the kidney tubules and necrosis of cells of the bursa. All the broilers receiving a ration with 0.1% of *Crotalaria* seeds showed ascites and slight lesions of the liver. The remaining groups showed no reduction in weight gains, lesions or clinical symptoms. It is concluded that broilers during the final phase of growth are sensitive to administrations of seeds of *C. spectabilis* in their ration. The presence of ascites and cartilaginous and osseous nodules in the lungs of the affected birds was also considered important.

Keywords: *Crotalaria spectabilis*, intoxication, ascites, broiler

INTRODUÇÃO

O gênero *Crotalaria* pertence à família *Leguminosae*, subfamília *Papilionoidea*, com cerca de 600 espécies distribuídas em regiões tropicais. A *C. spectabilis*, amplamente distribuída no Brasil pode causar intoxicação em várias espécies animais, por conter alcalóides pirrolizidínicos (Bull et al., 1968; Johnson et al., 1985; Williams & Molyneux, 1987; Panter & James, 1990). As aves também são sensíveis a esse princípio tóxico, conforme mostrado por Hooper (1978) e Hatayde et al. (1997). Nesse último trabalho, realizado no Brasil, os autores mostraram, em condições experimentais, os efeitos das sementes de *C. spectabilis* adicionadas à ração de aves comerciais para corte, em fase inicial de crescimento. Houve severa redução do ganho de peso, graves lesões hepáticas, ascite e alta mortalidade, sendo os efeitos dose-dependente. Trabalhos realizados em outros países, também mostraram que a planta possui efeito tóxico, em várias espécies animais, que se manifesta com sintomas clínicos (Bierer et al., 1960; Kelly et al., 1961; Harms et al., 1963; Hooper & Scanlan, 1977; Burguera et al., 1983; Afonso et al., 1993) e alterações patológicas (Simpson et al., 1963; Hooper

& Scanlan, 1977, Burguera et al., 1983; Figueiredo et al., 1987; Alfonso et al., 1993). No entanto, no Brasil, não há estudos sobre efeitos dessa planta em frangos de corte de linhagens comerciais atuais, criadas em modernas condições de manejo.

O presente trabalho foi delineado para estudar a ação das sementes de *C. spectabilis*, incorporadas à ração, em diferentes concentrações, sobre o desempenho de frangos de corte durante a fase final de criação e estudar os seus efeitos patogênicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 100 frangos de corte da linhagem Hubbard, machos, com 28 dias de idade no início do experimento, constituindo quatro tratamentos, com 25 aves divididas em cinco repetições de cinco animais cada. O manejo empregado foi o mesmo de granjas comerciais. Utilizou-se ração de crescimento do 28º ao 49º dia de idade das aves. As sementes da *C. spectabilis* foram previamente moídas e adicionadas à ração nos seguintes percentuais: GI-0,0% (controle); GII-0,01%; GIII-0,1% e GIV-0,4%. Após a adição, a ração era misturada durante 30 minutos. Esse preparo era feito semanalmente.

Os frangos foram mantidos em boxes por 21 dias, sob observação diária pela manhã e à tarde. O peso individual das aves foi determinado no início (dia zero) e a cada sete dias. As observações clínicas foram anotadas em ficha própria. No decorrer do experimento, as aves que vieram a óbito ou apresentaram sintomas clínicos graves foram submetidas à necrópsia, bem como todas as aves no final do experimento. Fragmentos de fígado, rins, pulmão, coração, pâncreas, proventrículo, intestinos e bolsa de Fabricius foram colhidos e processados pela técnica rotineira de inclusão em parafina e coloração as lâminas pela técnica da hematoxilina e eosina.

Os dados sobre peso dos frangos foram submetidos a análise de variância, utilizando-se o delineamento experimental em blocos casualizados, fazendo-se a comparação das médias pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante as três semanas de experimento as aves dos grupos GI e GII apresentaram ganho de peso bastante semelhante (Fig. 1), não se registrando alterações clínicas. De forma semelhante, as aves do grupo GIII também apresentaram desenvolvimento próximo ao do grupo-controle. No entanto, na terceira semana notava-se ligeiro abaulamento do abdômen. No grupo GIV observou-se que as aves tiveram crescimento sempre inferior ao do grupo-controle (Fig. 1), culminando com ganho de peso praticamente nulo ao final da terceira semana. A partir da segunda semana, as aves desse grupo apresentaram sintomas clínicos tais como penas eriçadas, apatia, anorexia, tristeza e agrupamento, com evidente retardo no crescimento. Durante a terceira semana os sintomas se agravaram, tornando-se evidente o aumento de volume do abdômen. Foram registradas quatro mortes.

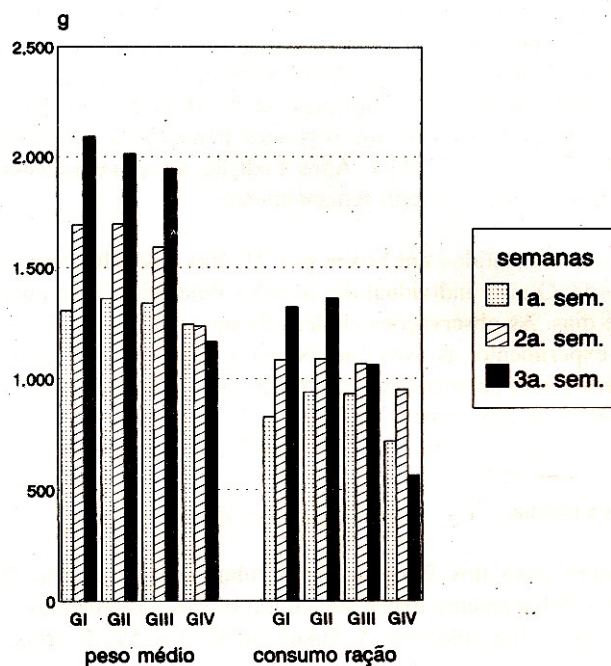


Figura 1. Efeito da intoxicação experimental de frangos de corte com sementes de *C. spectabilis*. Peso médio semanal das aves e consumo médio de ração dos quatro grupos experimentais.

No exame necroscópico foram observadas várias alterações nas aves do GIV, destacando-se ascite severa e lesões hepáticas. O acúmulo de líquido na cavidade abdominal era muito grande (Fig. 2). O líquido era amarelado, parcialmente coagulado, mas com características de transudato. Observou-se também que o fígado mostrava-se reduzido de volume, às vezes amarelado ou com pontos de coloração amarelo-esbranquiçado, alguns com superfície retraída ou ainda recobertos por fibrina. Observaram-se ainda rins aumentados de volume, bursa diminuída e presença de líquido espumoso na traquéia e nos pulmões. O exame microscópico revelou, no fígado, necrose focal de hepatócitos acompanhada de infiltrado de células inflamatórias, esteatose, núcleos de hepatócitos com adensamento de cromatina junto ao envoltório nuclear e nucléolos evidentes (Fig. 3), proliferação conjuntiva intersticial, infiltrados de células inflamatórias em espaços periportais (Fig. 4) e, em alguns casos, proliferação e hipertrofia de células ductos biliares causando atresia (Fig. 5 e 6). Acúmulo de pigmento biliar ocorreu também com frequência, indicando colestase (Fig. 5). Os rins apresentavam lesões degenerativas com vacuolização do citoplasma de células epiteliais tubulares. Bursas apresentavam grande número de células picnóticas, com redução do tecido linfóide. Pulmões mostraram edema e nódulos ósseos e cartilagosos (Fig. 7). Esses nódulos apareceram em grande número, chegando a dois ou três por campo microscópico de objetiva 10x. Nos demais grupos, só raramente foram encontrados nódulos desse tipo. Em outros órgãos não se identificaram lesões importantes que não estivessem igualmente presentes no grupo-controle.

Ascite também esteve presente em todas as aves do GIII, assim como lesões hepáticas, renais e pulmonares que também estiveram presentes, sempre discretas, em aproximadamente 50% dos animais.

As alterações relatadas nos grupos GIII e GIV não se fizeram presentes em nenhuma ave dos grupos GI e GII.

A redução de ganho de peso e o aparecimento de sintomas clínicos ocorreram à semelhança dos trabalhos de Simpson et al. (1963), Figueiredo et al. (1987) e Alfonso et al. (1993). As lesões encontradas durante a necrópsia e aquelas observadas em microscopia óptica também encontram paralelo com as descritas na literatura internacional (Simpson et al., 1963; Hooper & Scanlan, 1977; Burguera et al., 1983; Figueiredo et al., 1987; Alfonso et al., 1993).



Figura 2. Aspecto macroscópico de aves intoxicadas experimentalmente com *C. spectabilis*. A pele foi rebatida evidenciando a parede abdominal e músculos peitorais. Nota-se abdômen abaulado (seta) devido à ascite.

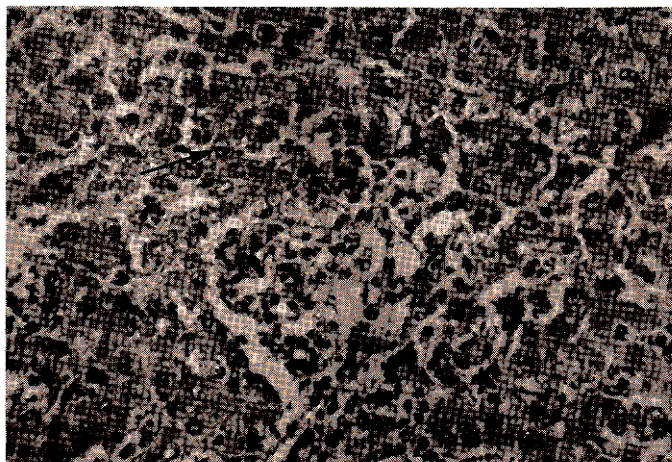


Figura 3 - Corte histológico de fígado de ave intoxicada experimentalmente com *C. spectabilis*. Ao centro observa-se área de necrose em meio a hepatócitos com alterações degenerativas. As setas indicam núcleos com nucléolos aumentados. HE, 400x.

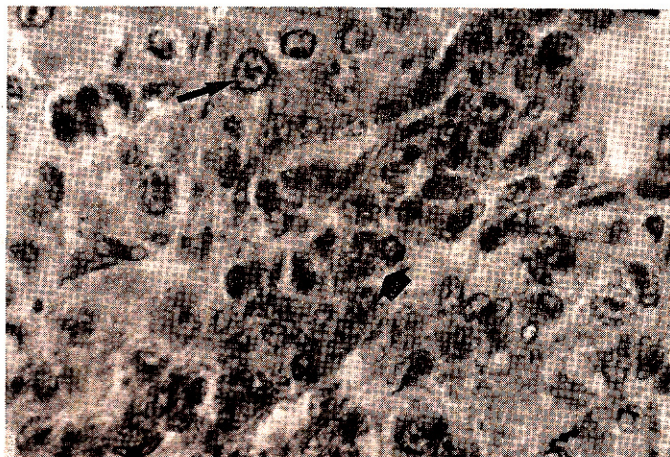


Figura 4. Corte histológico de fígado de ave intoxicada experimentalmente com *C. spectabilis*. A seta maior indica infiltrado de heterófilos em meio a hepatócitos. A seta fina indica núcleo de hepatócito com cromatina concentrada ao redor do envoltório nuclear e nucléolo evidentes. HE, 1000x.

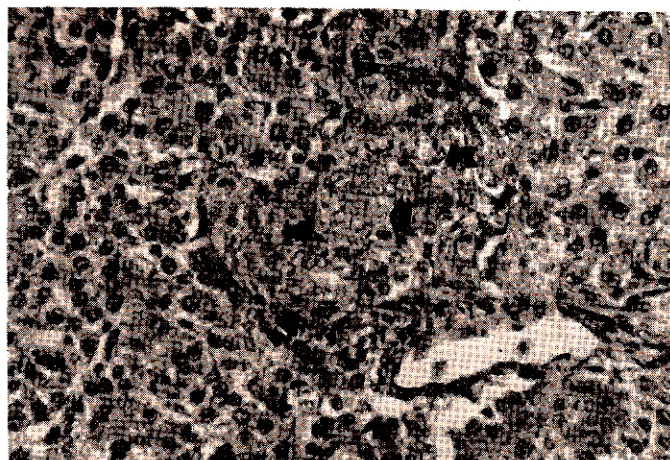


Figura 5 - Corte histológico de fígado de ave intoxicada experimentalmente com *C. spectabilis*. Setas menores indicam acúmulo de pigmento biliar. Seta maior indica ducto biliar com células hipertrofiadas causando atresia. HE, 400x.

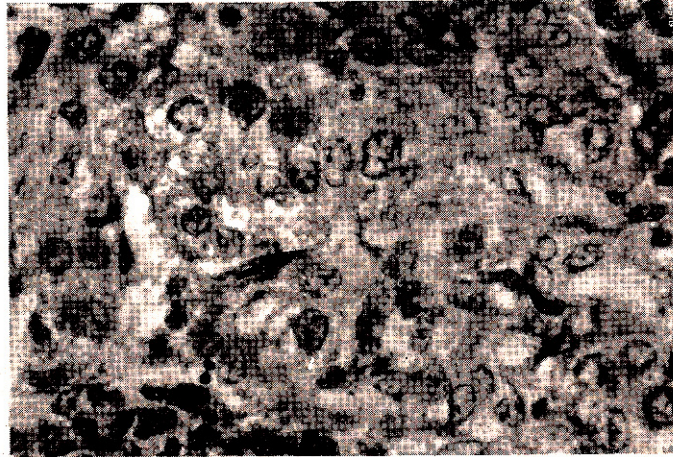


Figura 6 - Corte histológico de fígado de ave intoxicada experimentalmente com *C. spectabilis*. Observa-se ducto biliar atrético (seta) com células hipertrofiadas e atípicas. Ao centro, ausência de luz do ducto (seta). HE, 1000x.

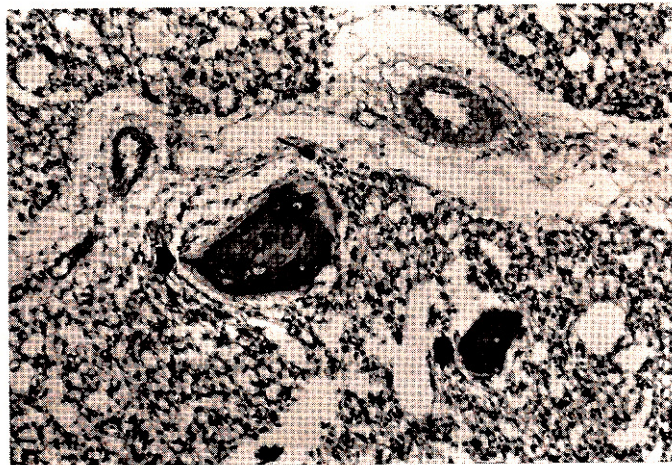


Figura 7 - Corte histológico de pulmão de ave intoxicada experimentalmente com *C. spectabilis*. Observam-se duas áreas de ossificação (setas). HE, 200x.

A análise dos dados referentes ao GII mostram ligeira redução do peso médio das aves ao final do experimento. Embora esses dados não apresentem significância estatística, ao nível estabelecido, considerando-se a uniformidade das condições em que o experimento foi desenvolvido e a importância de qualquer redução em produtividade em termos de avicultura industrial, eles merecem atenção. Deve ser lembrado também que o tratamento foi limitado a três semanas de vida das aves, partindo-se de um grupo uniforme e de desenvolvimento inteiramente satisfatório até o 28º dia de vida, ou seja, até o início do período experimental.

O fato de as aves do grupo GIII mostrarem ascite, sendo que à necropsia constatou-se sua presença em 100% das aves, deve ser considerado importante. A ascite vem sendo um dos problemas da avicultura atual (Coelho et al., 1993) e não tem etiologia definida. Uma das teorias mais aceitas é a da hipóxia, geralmente devido a ambiente pouco ventilado, que promoveria proliferação de fibroblastos, maior produção de colágeno e envolvimento de capilares. Esses apresentariam espessamento de parede (Maxwell et al., 1986), participando da patogenia da ascite. No presente trabalho, mesmo na ausência de lesão hepática grave, como verificado no grupo GIII, houve ascite proeminente que poderia estar implicada com lesões semelhantes às descritas por Maxwell et al. (1986), nesse caso, causada pela planta. No entanto, a metodologia aqui empregada não permitiu estudar esse tipo de lesão. Por outro lado, no grupo GIV, constatou-se presença de maior número de nódulos ósseos e cartilagosos, que seriam uma evolução da proliferação conjuntiva pulmonar, como sugerido por Maxwell (1988). Se há correlação dessa lesão com o quadro de ascite, ou se há correlação com o princípio tóxico da planta, ou com ambos, os dados não permitem concluir. Ascite devido à intoxicação por *C. spectabilis* foi registrada também em trabalhos de Simpson et al. (1963), Burguera et al. (1983), Figueredo et al. (1987) e Alfonso et al. (1993), mas esses autores não fazem referência à presença de nódulos ósseos ou cartilagosos ectópicos no pulmão.

CONCLUSÕES

Sementes de *C. spectabilis* adicionadas à ração causam intoxicação em frangos de corte de linhagem comercial mantidos em condições de manejo intensivo. Concentrações de 0,1% e 0,4% levam a um quadro de ascite severa em 100% das aves. A concentração de 0,4% causa severa intoxicação, com lesões graves de fígado, rim e pulmão, principalmente. Aves submetidas a essa condição

apresentam maior número de nódulos ósseos e cartilagosos pulmonares, o que pode estar ligado ao quadro de ascite.

AGRADECIMENTOS

Aos técnicos e auxiliares Francisca A. Ardisson, Maria I.Y. Campos, Narciso B. Tel, Edgar Homem, Antônio J. dos Santos, Aparecida B. Rodrigues pelo excelente apoio técnico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFONSO, H.A., FIGUEREDO, M.A., SANCHEZ, L.M. et al. Intoxication due *Crotalaria retusa* and *Crotalaria spectabilis* in chickens and geese. *Vet. Hum. Toxicol.*, v.35, p.539, 1993.
- BIERER, B.W., VICKERS, C.L., RHODES, W.H. et al. Comparison of the toxic effects of *Crotalaria spectabilis* and *Crotalaria giant striata* as complete feed contaminants. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.136, p.318-322, 1960.
- BULL, L.B., CULVENOR, C.C.J., DICK, A.T. *The pyrrolizidine alkaloids: their chemistry, pathogenicity and other biological properties*. New York: American Elsevier, 1968.
- BURGUERA, J.A., EDDS, G.T., OSUNA, O. Influence of selenium on aflatoxin B1 or *Crotalaria* toxicity in turkey poults. *Am. J. Vet. Res.*, v.44, p.1714-1717, 1983.
- COELHO, C.L., MENOCA, J.A., GONZALES, E.A. El síndrome ascítico en pollo de engorda. In: Conferencia APINCO 93 DE CIÊNCIA E TECNOLGOIA AVÍCOLA, Santos. *Anais*. Santos: 1993. p.221-248.
- FIGUEREDO, M.L.A., RODRIGUES, J., ALFONSO, H.A. Patomorfologia de la intoxicación experimental aguda por *Crotalaria retusa* y *Crotalaria spectabilis* en pollos. *Rev. Cubana Cien. Vet.*, v.18, p.63-71, 1987.
- HARMS, R.H., WALDROUP, M.S., SIMPSON, C.F. Effect of feeding various of *Crotalaria spectabilis* seed on performance of chicks, turkeys, and pullets. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.142, p.260-263, 1963.
- HATAYDE, M.R., BERCHIERI-JUNIOR, A., ALESSI, A.C. et al. Estudo experimental sobre a intoxicação de *Gallus gallus domesticus* com sementes de *Crotalaria spectabilis*. I - Efeito em aves na fase inicial de crescimento. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.34, n.6, 1997 (no prelo).

- HOOPER, P.T., SCANLAN, W.A. *Crotalaria retusa* poisoning of pigs and poultry. *Aust. Vet. J.*, v.53, p.109-114, 1977.
- HOOPER, P.T. Pyrrolizidine alkaloid poisoning with particular reference to differences in animal and plant species. In: KEELB, R.F., VANKAMPEN, K.R., JAMES, L.F. *Effects of poisonous plants on livestock*. New York: Academic Press, 1978. p.161-176.
- JOHNSON, A.E., MOLYNEUX, R.J., MERRIL, G.B. Chemistry of toxic range plants variation in pyrrolizidine alkaloid content of *Senecio*, *Amsinckia*, and *Crotalaria* species. *J. Agric. Food. Chem.* v. 33, p.50-55, 1985.
- KELLY, J.W., BARBER, C.W., PATE, D.D. et al. Effect of feeding *Crotalaria* seed to young chickens. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.139, p.1215-1217, 1961.
- LORENZI, H. *Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais*. 2.ed. Nova Odessa: Plantarum, 1991. p.273.
- MAXWELL, M.H. The histology and ultrastructure of ectopic cartilaginous and osseous nodules in the lungs of young broilers with an ascitic syndrome. *Avian Pathol.*, v.17, p.201-219, 1988.
- MAXWELL, M.H., ROBERTSON, G.W., SPENCE, S. Studies on an ascitic syndrome in young broilers. II. Ultrastructure. *Avian Pathol.*, v.15, p.525-538, 1986.
- PANTER, K.E., JAMES, L.F. Natural plant toxicants in milk: a review. *J. Anim. Sci.*, v.68, p.862-904, 1990.
- SIMPSON, C.F., WALDROUP, P.W., HARMS, R.H. Pathologic changes associated with feeding various levels of *Crotalaria spectabilis* seed to poultry. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.142, p.264-271, 1963.
- WILLIAMS, M.C., MOLYNEUX, R.J. Occurrence, concentration and toxicity of pyrrolizidine alkaloids in *Crotalaria* seeds. *Weed Sci.*, v.35, p.476-481, 1987.