

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**COBRE SÉRICO E ENZIMAS RELACIONADAS AO SEU  
METABOLISMO EM OVINOS PREPARADOS PARA  
EXPOSIÇÃO E CRIADOS A CAMPO NA DEPRESSÃO  
CENTRAL DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Ubiratã Rezler**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2007**

**COBRE SÉRICO E ENZIMAS RELACIONADAS AO SEU  
METABOLISMO EM OVINOS PREPARADOS PARA  
EXPOSIÇÃO E CRIADOS A CAMPO NA DEPRESSÃO  
CENTRAL DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL**

**por**

**Ubiratã Rezler**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Clínica Médica, Sub-área em Endocrinologia e Metabologia Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária.**

**Orientador: Marcelo Cecim**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2007**

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a  
Dissertação de Mestrado

**COBRE SÉRICO E ENZIMAS RELACIONADAS AO SEU METABOLISMO  
EM OVINOS PREPARADOS PARA EXPOSIÇÃO E CRIADOS A CAMPO  
NA DEPRESSÃO CENTRAL DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL**

elaborada por  
**Ubiratã Rezler**

como requisito parcial para a obtenção do grau de  
**Mestre em Medicina Veterinária**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

**Marcelo Cecim, PhD.**  
(Presidente/Orientador)

**Luiz Alberto Oliveira Ribeiro, Dr. (UFRGS)**

**Marcelo Soares, Dr. (UFSM)**

Santa Maria, 14 de setembro de 2007

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Grande Arquiteto do Universo, pelo ar que respiramos, pelo alimento que consumimos, pela saúde que desfrutamos e pelos amigos que nos cercam;

Aos meus pais, irmãos, cunhadas, sobrinhos e sobrinhas, por serem presentes em minha vida;

Ao meu orientador, Marcelo Cecim, pela disponibilidade em orientar meu mestrado;

Ao professor Luiz Alberto Oliveira Ribeiro, Betinho, pelo auxílio, amizade, companheirismo e constante transmissão de conhecimentos enquanto da minha estada na UFRGS;

Aos amigos Fernando e Ana Cláudia Groff, Marcelo e Patrícia Alievi, que foram e são minha família em Porto Alegre;

Aos estagiários do Centro de Estudos em Pequenos Ruminantes da UFRGS, Gustavo Lopes, Carla, Fernando, Samuel, Marcelo e Gustavo Agnes, pelo trabalho na colheita a campo e processos laboratoriais;

Às tantas pessoas que cruzaram na minha vida, nas mais diferentes oportunidades e com os mais diferentes objetivos. Não importa se trouxeram alegria ou tristeza, saibam que aprendi com vocês o ensinamento da vida, aquele que não se lê em artigos ou livros e não se encontra à venda na loja da esquina, mas o que se fixa em nosso ser, alegrando nossa alma ou deixando cicatrizes, porém carregado para sempre.

“Tudo na vida são idéias inteligentes  
e decisões firmes.”

(Goethe)

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária  
Universidade Federal de Santa Maria

### COBRE SÉRICO E ENZIMAS RELACIONADAS AO SEU METABOLISMO EM OVINOS PREPARADOS PARA EXPOSIÇÃO E CRIADOS A CAMPO NA DEPRESSÃO CENTRAL DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL

AUTOR: UBIRATÃ REZLER  
ORIENTADOR: MARCELO CECIM  
Santa Maria, 14 de setembro de 2007.

O objetivo desse trabalho foi identificar as concentrações séricas de cobre e enzimas aspartatoaminotransferase (AST) e gamaglutamiltransferase (GGT) tanto em ovinos preparados para exposição como criados a campo, a fim de contribuir para a formação de valores de referência e auxiliar no prognóstico da saúde desses animais. Colheram-se 120 amostras de sangue de animais de exposição e 110 de animais de campo, independente de sexo, raça e idade. Os níveis séricos médios de cobre, AST e GGT dos animais de exposição e a campo foi igual a  $66,14 \pm 9,76$  e  $62,01 \pm 16,36 \mu\text{g.dl}^{-1}$  ( $P < 0,0357$ );  $85,01 \pm 40,02$  e  $65,58 \pm 16,19$  UI ( $P < 0,0001$ );  $41,02 \pm 10,61$  e  $41,91 \pm 9,49$  UI, respectivamente. Em conclusão, as médias do elemento cobre de animais preparados para exposição mostraram-se dentro dos valores de referência e as de alguns animais mantidos a campo abaixo do intervalo fisiológico. Os níveis séricos de AST e GGT aumentados no grupo exposição parecem não estar relacionados com o acúmulo hepático de cobre.

Palavras-chave: aspartatoaminotransferase, gamaglutamiltransferase, intoxicação crônica por cobre, ovino.

## ABSTRACT

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária  
Universidade Federal de Santa Maria

SERUM COPPER AND LIVER ENZYMES RELATED TO ITS METABOLISM IN SHOW SHEEP AND SHEEP RAISED UNDER FIELD CONDITIONS IN THE CENTRAL DEPRESSION OF RIO GRANDE DO SUL STATE, BRAZIL

AUTOR: UBIRATÃ REZLER  
ORIENTADOR: MARCELO CECIM  
Santa Maria, 14 de setembro de 2007.

The objective of the present work was to identify serum copper levels and aspartateaminotransferase (AST) and gamaglutamyl transferase (GGT) activity in purebred show and field raised sheep and to contribute to formation of regional reference values. Blood samples of 120 show sheep and 110 field raised animals were collected independently of age, sex and breed. Means serum levels of copper for show and field sheep  $66.14 \pm 9.76$  and  $62.01 \pm 16.36 \mu\text{g}\cdot\text{dl}^{-1}$  ( $P < 0.0357$ ), respectively; AST activity was higher in show sheep than in field animals ( $85.01 \pm 40.02$  vs.  $65.58 \pm 16.19$  IU,  $P < 0.0001$ ); GGT activity was  $41.02 \pm 10.61$  and  $41.91 \pm 9.49$  IU with no differences between groups. In conclusion, serum copper levels in all show animals were within international reference values, whereas field raised animals presented several individuals that fell below the lower limit. Serum activity of AST and GGT appear not to be related to copper metabolism in these animals.

Key words: aspartate aminotransferase, gamma-glutamyl transferase, chronic copper poisoning, sheep.

## **LISTA DE TABELAS**

TABELA 1 – Concentrações séricas médias do elemento cobre e enzimas AST e GGT medidas em ovinos machos e fêmeas preparados para exposição e criados a campo na região da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul .....28



## **LISTA DE FIGURAS**

- FIGURA 1 – Concentrações séricas do elemento cobre medidas em ovinos machos e fêmeas preparados para exposição e criados a campo na região da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul .....29
- FIGURA 2 - Concentrações séricas da enzima AST medidas em ovinos machos e fêmeas preparados para exposição e criados a campo na região da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul .....30
- FIGURA 3 - Concentrações séricas da enzima GGT medidas em ovinos machos e fêmeas preparados para exposição e criados a campo na região da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul .....31

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>12</b>
<b>2.1. Cobre.....</b>	<b>12</b>
<b>2.2. AST e GGT .....</b>	<b>17</b>
<b>3. CAPÍTULO 1 – Cobre sérico e enzimas relacionadas ao seu metabolismo medidos em ovinos preparados para exposição e criados a campo na região da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul.....</b>	<b>19</b>
<b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>32</b>

# 1. INTRODUÇÃO

A criação de ovinos foi, por muitos anos, uma importante fonte de renda nas grandes propriedades da região Sul e Fronteira Oeste do Estado do Rio Grande do Sul (RS). Durante e após a crise da lã, que se estendeu do final da década de 70 e início da década de 80, os rebanhos laneiros reduziram-se substancialmente, onde seu efetivo de 13 milhões de cabeças baixou para não mais de quatro milhões nos dias atuais, distribuídos na Fronteira Oeste (39,8%), Sul (19,3%) e Campanha (13,2%) (ANUALPEC, 2003).

Em virtude disso, ocorreu uma maior procura por carne ovina de qualidade. Ovinos de raças com aptidão para produção de carne tornaram-se valorizados. Seguiu-se um intenso tráfico de animais vindos do exterior ou mesmo de diferentes partes do Brasil, o que favoreceu o aparecimento de várias doenças de origem infecciosa e/ou metabólica até então exóticas ou raras no RS.

Uma doença de origem metabólica que se tornou bastante comum entre os ovinos do tipo carne é a intoxicação crônica por cobre (ICC), manifestando-se principalmente em animais de alta genética preparados para exposições. Underwood & Suttle (1999) enfatizam que animais das raças Texel e Suffolk são mais susceptíveis a essa intoxicação quando comparados com ovinos Corriedale ou Ideal, tradicionalmente criados no RS.

Os primeiros relatos da ocorrência de casos de ICC em exposições agropecuárias no RS foram feitos por Galvão & Williams (1966) em animais com aptidão lã e, desde então, óbitos por essa doença vêm sendo observados. A alimentação fornecida a esses animais no período pré-exposição é o fator principal para o acúmulo excessivo do elemento cobre no fígado. Em muitos casos, rações não indicadas para a espécie ou mesmo mal formuladas, e ainda a relação concentrado:volumoso acima de 30:70 contribuem para aumentar a casuística. Os ovinos têm baixa tolerância ao cobre (WELLS *et al.*, 2000), onde a ingestão acima de 10 mg.kg<sup>-1</sup> ao dia desse mineral causa seu acúmulo no fígado (CAVALHEIRO & TRINDADE, 1992), predispondo o animal à crise hemolítica.

Como os sinais clínicos da ICC são evidenciados em uma fase crítica da intoxicação, pesquisam-se métodos diagnósticos para evitar a morte de animais e melhor compreender o metabolismo desse mineral no organismo ovino. Dentre os métodos pesquisados está a mensuração das concentrações séricas do elemento cobre e de enzimas hepáticas participantes do seu metabolismo, tais como a aspartatoaminotransferase (AST) e a gamaglutamiltransferase (GGT).

As concentrações séricas do elemento cobre e das enzimas AST e GGT para ovinos encontrados na literatura são muito díspares. O cobre varia de 58 a 160  $\mu\text{g}\cdot\text{dl}^{-1}$  (KANEKO *et al*, 1997; UNDERWOOD & SUTTLE, 1999), a AST entre 0 e 350 UI (KANEKO *et al*, 1997; BLOOD & RADOSTITS, 1989) e a GGT entre 0 e 70 UI (KANEKO *et al*, 1997; BLOOD & RADOSTITS, 1989), o que causa dúvidas quanto a real injúria que o tecido hepático pode estar sendo vítima. Por outro lado, praticamente não há dados sobre concentrações normais de cobre e dessas enzimas hepáticas tanto em ovinos criados a campo como para àqueles preparados para exposições no RS.

Esse trabalho tem por objetivo identificar as concentrações séricas do elemento cobre e das enzimas AST e GGT em ovinos preparados para exposições e criados a campo na depressão central do RS, e, com isso, contribuir para a construção de valores de referência locais, auxiliando, assim, no diagnóstico e prognóstico da saúde desses animais.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Cobre

O cobre é um microelemento essencial para o organismo animal, sendo encontrado em diversas enzimas que atuam na produção de hemoglobina, formação dos ossos e pigmentação dos pêlos e da lã. É absorvido tanto no intestino grosso (CAVALHEIRO & TRINDADE, 1992) como no intestino delgado (UNDERWOOD & SUTTLE, 1999). O requerimento diário para ovinos está entre 4 e 5 mg.kg<sup>-1</sup> (GAVILLON & QUADROS, 1976), e sua absorção é diretamente relacionada aos níveis de outros elementos, tais como ferro, molibdênio, zinco, sulfato e enxofre. Ovinos criados em pastagens deficientes desses elementos podem acumular quantidades excessivas de cobre no fígado (KIMBERLING, 1988).

O fígado é de fundamental importância no metabolismo do cobre, sendo responsável por até 90% do seu armazenamento (HIDIROGLOU & IVAN, 1993). As fontes potenciais de excesso de cobre incluem rações indicadas para outras espécies animais, como bovinos, eqüinos e suínos, misturas minerais, soluções de pedilúvio contendo sulfato de cobre, pastagens adubadas tanto com sulfato de cobre como com esterco de suínos e frangos e alimentos contendo proporção cobre : molibdênio acima de 10 : 1 (BELKNAP & PUGH, 2005). A soja é uma das leguminosas que têm naturalmente uma alta concentração de cobre (KIMBERLING, 1988), devido principalmente aos fungicidas aspergidos sobre ela.

Pastagens adubadas com esterco de aves ou suínos são uma prática comum em regiões produtoras de ovinos. Em virtude disso, essas pastagens ficam saturadas com íons cobre, tornando-se fonte de intoxicação. Kerr & McGavin (1991) relataram a morte de oito ovinos que pastoreavam em locais adubados com esterco de suínos, encontrando concentrações séricas de cobre iguais a 194 mg.dl<sup>-1</sup>, hepático entre 1473 mg.kg<sup>-1</sup> e 3025 mg.kg<sup>-1</sup> e renal entre 62 mg.kg<sup>-1</sup> e 630 mg.kg<sup>-1</sup>. No solo adubado com o esterco, os níveis de cobre e molibdênio encontrados foram

iguais a  $26,35 \text{ mg.kg}^{-1}$  e  $0,65 \text{ mg.kg}^{-1}$ , respectivamente. Em áreas adjacentes, onde não foi utilizado esse tipo de adubação, o nível de cobre no solo foi igual a  $7,25 \text{ mg.kg}^{-1}$  e o de molibdênio a  $0,85 \text{ mg.kg}^{-1}$ .

Muitos anti-helmínticos possuem em sua formulação sais de cobre, o que os torna potencialmente tóxicos para ovinos, podendo resultar em ICC. Pastagens contaminadas com sulfato de cobre, quando este é usado para controlar footrot ou fasciola hepática, também são fontes de intoxicação (ALBINSON, 1975).

No RS, a ICC vem sendo diagnosticada em ovinos estabulados e alimentados com rações comerciais (RIBEIRO et al, 1985), pois esses animais recebem quantidade de ração acima da sua exigência em virtude da preparação para exposições. A primeira referência de ICC em ovinos estabulados no Brasil foi em 1966, em animais exibidos na Exposição Estadual de Animais de Porto Alegre, RS, sendo a ingestão continuada de dietas com altos níveis de cobre durante a preparação dos animais para a feira somado a situações estressantes, como a viagem para a feira e a mudança de ambiente, fatores determinantes para o desencadeamento desse quadro (GALVÃO & WILLIAMS, 1966). Möllerke & Ribeiro (2005) pesquisaram o teor de cobre em rações comerciais oferecidas a ovinos de uma feira agropecuária por dois anos consecutivos, encontrando no primeiro ano média igual a  $11,37 \pm 3,08 \text{ mg.kg}^{-1}$  e no segundo,  $16,37 \pm 7,00 \text{ mg.kg}^{-1}$ .

A ICC resulta da ingestão, absorção e mobilização do cobre estocado no fígado por semanas ou meses para a corrente sanguínea (KIMBERLING, 1988). estando condicionada ao acúmulo lento do mineral no tecido hepático dos animais (BOSTWICK, 1982).

Os ovinos têm baixa tolerância ao cobre (WELLS et al., 2000), sendo mais vulneráveis a ICC do que outros animais de produção, devido ao mecanismo de excreção biliar do cobre ser menos eficiente (FIGUERA, 2001). Conforme Cavalheiro & Trindade (1992), o cobre na dieta de ovinos não pode exceder a  $10 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Animais recebendo dieta com níveis superiores a esse são particularmente suscetíveis a acumular esse metal no tecido hepático e, conseqüentemente, sofrer de ICC (SOLI, 1980).

A ICC pode ser primária, quando causada pela ingestão de alimentos com alto conteúdo de cobre; secundária, quando, mesmo os níveis de cobre mantendo-se abaixo do limite máximo de ingestão diária, há acúmulo hepático do mineral em decorrência do baixo teor de molibdênio nas pastagens ou no concentrado; e

hepatógena, quando o cobre e o molibdênio ingeridos estão em níveis normais, porém há acúmulo do mineral devido a lesões hepáticas causadas pela ingestão de plantas tóxicas compostas por alcalóides pirrolizidínicos (BRIGHTLING, 1988; PEREIRA & RIVERO, 1993 *apud* RIET CORREA).

A ingestão de níveis de cobre acima dos tolerados não produz sinais clínicos enquanto este se acumula no tecido hepático, o que pode levar semanas ou até mesmo meses (MÉNDEZ, 2001). Quando acumulado, esse mineral se liga a metaloproteína ceruloplasmina, levando a uma saturação hepática. Condições estressantes desencadeiam a liberação do metal armazenado para a corrente sangüínea (KIMBERLING, 1988; MÉNDEZ, 2001; NAVARRE & PUGH; BELKNAP & PUGH, 2005) e, como o cobre livre ou não ligado é potencialmente hemolítico (BELKNAP & PUGH, 2005), há inibição de enzimas via pentose fosfato e, assim, redução dos níveis de glutathione reduzido, o que causa a oxidação da hemoglobina e posteriormente anemia hemolítica pela formação dos corpúsculos de Heinz. A hemólise é intravascular, ocorrendo metemoglobinúria com conseqüente insuficiência renal aguda, causando a morte do animal (KIMBERLING, 1988; FIGHERA; MÉNDEZ, 2001).

Ovinos com aptidão lã têm requerimento diário de cobre igual a  $6,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ , mantendo-se o molibdênio abaixo de  $1,5 \text{ mg.kg}^{-1}$  (GAVILLON & QUADROS, 1976). Cordeiros em crescimento têm exigência entre  $1,0$  e  $2,9 \text{ mg.kg}^{-1}$  e ovelhas em reprodução e/ou lactação entre  $4,4$  e  $5,9 \text{ mg.kg}^{-1}$  (GRACE, 1983).

A concentração sérica fisiológica de cobre para ovinos varia substancialmente entre os pesquisadores. Kaneko et al (1997) identificam-na entre  $58$  e  $160 \text{ } \mu\text{g.dl}^{-1}$ . Já Underwood & Suttle (1999), entre  $57$  e  $95 \text{ } \mu\text{g.dl}^{-1}$ , sendo que, para esses autores, animais com concentrações entre  $127$  e  $158 \text{ } \mu\text{g.dl}^{-1}$  são potencialmente susceptíveis e estariam em risco de desenvolver uma crise hemolítica. Kimberling (1988) refere-se a normocupremia entre  $100$  e  $200 \text{ } \mu\text{g.dl}^{-1}$ , e Navarre & Pugh (2005) afirmam que os valores séricos desse metal aumentam de 10 a 20 vezes quando há crise hemolítica aguda.

A concentração de cobre no tecido hepático ovino menor ou igual a  $500 \text{ mg.Kg}^{-1}$ , segundo Bostwick (1982) e Pereira & Rivero (1993), está dentro dos padrões para a espécie. Ambos concordam que concentrações acima desse valor tornam os animais predisponentes a uma crise hemolítica. Kimberling (1988) cita que

em animais que ingerem quantidades excessivas em poucas semanas, é comum encontrar níveis hepáticos de cobre entre 1000 e 3000 mg.Kg<sup>-1</sup>.

Rodrigues et al (1995) reuniram dados de 1985 a 1994 de uma feira agropecuária de Esteio, RS, num total de 16 casos de ICC. Desses casos, cinco foram necropsiados e o tecido hepático e renal avaliados.. O resultados dessas análises evidenciou níveis de cobre entre 1485 e 2061 mg.Kg<sup>-1</sup> no tecido hepático e 150 a 411 mg.Kg<sup>-1</sup> no tecido renal.

Durante dois anos, Möllerke & Ribeiro (2005) relataram a observação de um grupo de ovinos de diversas raças expostos em uma feira agropecuária. A análise da ração fornecida a eles revelou uma média de 11,37 mg.Kg<sup>-1</sup> de cobre. A mensuração desse mineral no tecido hepático e no tecido renal dos animais necropsiados foi de 1641 mg.Kg<sup>-1</sup> e 305 mg.Kg<sup>-1</sup>, respectivamente.

No solo, o cobre encontra-se na matéria orgânica e a sua deficiência pode estar associada ao excesso de calagem ou à aplicação de altos níveis de nitrogênio e/ou fósforo. A calagem propicia um aumento do pH do solo, tornando o molibdênio, que é o principal antagonista do cobre, mais disponível. A toxicidade do cobre em solos de pastejo é improvável, salvo locais onde eram plantadas culturas sujeitas a pulverizações com cobre, como parreirais e macieiras (BOOM, 2002). Ribeiro et al (1995) encontraram teores de 60 mg.Kg<sup>-1</sup> na pastagem de solos cultivados com macieiras, o que resultou na morte de 17,5% de um rebanho ovino. Mais recentemente, Ribeiro et al (2007) encontraram altos teores de cobre em pastagens sob videiras adubadas com cama aviária.

Gavillon e Quadros (1976) pesquisaram os teores de cobre e molibdênio nas pastagens nativas do RS e concluíram que estas possuem quantidades suficientes desses minerais durante a primavera, estando entre 5,6 a 9,9 mg.Kg<sup>-1</sup> de cobre, com molibdênio mantendo-se abaixo de 1,0 mg.Kg<sup>-1</sup>. Durante o verão, os valores tornam-se muito próximos dos limítrofes para os ovinos, porém as reservas hepáticas de cobre feitas durante a primavera permitem que os animais passem por esta estação sem sofrer conseqüências de hipocupremia. Para esses autores, qualquer aporte extra de cobre em ovinos criados em pastoreio no RS poderá induzir a um quadro de ICC, dada a falta de molibdênio para obstaculizar sua absorção. Em outra pesquisa, Cavalheiro & Trindade (1992) obtiveram um teor médio de cobre no solo da região da campanha do RS de 5,0 mg.Kg<sup>-1</sup>, levando-se em conta as variações nas quatro estações do ano.



Os sinais clínicos da ICC somente tornar-se-ão reconhecidos quando houver a presença de fatores estressantes (BLAKLEY, 2006). Imediatamente antes e durante a crise hemolítica, os sinais clínicos mais reconhecidos são taquipnéia, fraqueza, polidipsia, xifose, inapetência, apatia, dor abdominal, febre, diarréia, urina vermelho-amarronzada, icterícia e isolamento do rebanho. Animais encontrados mortos e com sinais de hemólise e icterícia também se juntam aos achados da ICC (BOSTWICK, 1982; BRIGHTLING, 1988; PUGH, 2001). Em um rebanho afetado, as mortes ocorrem em poucas semanas e a maioria dos animais morre entre 3 e 5 dias após os sinais se tornarem aparentes. Animais que não morrem em uma semana tendem a recuperar-se, mas tornam-se subdesenvolvidos quando comparados a animais sadios (BRIGHTLING, 1988).

No exame clínico-patológico é possível encontrar anemia, hemoglobinemia, hiperbilirrubinemia, aumento da atividade das enzimas hepáticas e azotemia. A urinálise revela hemoglobinúria e isostenúria que, somada a azotemia, indica insuficiência renal aguda. Durante a necropsia, a determinação do teor de cobre nos rins é o exame de maior valor diagnóstico, uma vez que a concentração hepática pode estar normal em virtude da liberação do mineral para a corrente sanguínea. Uma concentração renal superior a  $100 \text{ mg.Kg}^{-1}$  e hepática a  $350 \text{ mg.Kg}^{-1}$  são indicadores para diagnóstico, porém o diagnóstico definitivo requer a dosagem do nível sérico de cobre (NAVARRE & PUGH, 2005).

O tratamento indicado para a ICC varia na quantidade, freqüência e tempo de administração, porém vários autores concordam que o molibdato de amônia e o sulfato de sódio são os produtos de eleição. Kerr & McGavin (1991) indicam o uso de 300 mg de molibdato de amônia e 500 mg de sulfato de sódio por animal, por via oral (VO) diariamente durante quatro semanas. Já Kimberling (1988) indica o uso de 50 a 100 mg de molibdato de amônia e 0,5 a 1,0 g de sulfato de sódio diariamente, VO, para cada animal, durante três semanas. Ribeiro et al (1995) utilizaram 100 mg de molibdato de amônia e 1 g de sulfato de sódio, VO, por animal, durante 10 dias, em um rebanho remanescente que era mantido em pomar de macieira. Humphries et al (1988) controlaram a fase aguda da ICC em 12 animais através da administração de tetratiomolibdato de amônia por via subcutânea, a cada 48 horas.

## 2.2 AST e GGT

O uso de provas bioquímicas séricas, através da mensuração de AST e GGT para a detecção precoce da crise hemolítica e diagnóstico da ICC em ovinos, vem sendo estudada desde os anos 60, porém ainda há muita disparidade entre os pesquisadores quanto às concentrações séricas fisiológicas dessas enzimas. Para Blood & Radostits (1989), concentrações séricas de AST entre 260 e 350 UI e de GGT igual ou menor a 70 UI indica a funcionalidade desses órgãos. Já para Kaneko et al (1997), têm outra variação. Para esses autores, a AST em níveis igual ou menor a 90 UI e a GGT entre 20 e 52 UI é a tradução da boa saúde do animal testado.

A AST é uma enzima encontrada no citosol e na mitocôndria celular. É mais abundante no fígado, eritrócitos e nos músculos esquelético e cardíaco. O aumento dessa enzima é observado em hepatite infecciosa e tóxica, cirrose, obstrução biliar e fígado gorduroso, deficiência de selênio e vitamina E, exercício físico intenso e hemólise. Em ruminantes, é um bom indicador do funcionamento hepático. A presença dessa enzima em vários tecidos a torna não-específica, porém muito útil como um marcador de dano tecidual.

A GGT é uma enzima associada às membranas, estando também no citosol, especialmente dos ductos biliares e renais. Quando encontrada no plasma é de origem hepática, indicando colestase e proliferação de ductos biliares, cirrose e colangiocarcinoma.

Diferentes concentrações séricas de AST são relatadas em ovinos sobreviventes de rebanhos acometidos pela ICC. Conforme Möllerke & Bernhard (2002), a variação encontrada está diretamente relacionada ao tempo de exposição dos animais ao cobre. Kerr & McGavin (1991) relataram a morte de oito ovinos que pastoreavam em locais adubados com esterco suíno, encontrando concentração sérica média dessa enzima igual a 2040 UI. Em seu estudo, Ribeiro et al (1995) encontraram valores iguais a  $334,50 \pm 175,50$  UI e Möllerke & Bernhard (2002) a  $1030,80 \pm 263,33$  UI. Em outro estudo, Ribeiro et al (2007) encontraram 403,30 UI em ovinos que pastoreavam pomares de videira adubados com cama aviária.

Lemos et al (1997) monitoraram um grupo de animais através da concentração sérica de AST e GGT e observaram elevação de GGT entre duas e

três semanas antes do surgimento dos sinais clínicos de ICC, sugerindo que essa enzima é o melhor parâmetro para avaliação da lesão hepática.

### 3. CAPÍTULO 1

#### **Cobre sérico e enzimas relacionadas ao seu metabolismo medidos em ovinos preparados para exposição e criados a campo na região da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul**

Serum copper and copper related liver enzymes in show sheep and sheep raised under field conditions in the Central Depression region of Rio Grande do Sul State, Brazil

Ubiratã Rezler<sup>I</sup>; Luiz Alberto Oliveira Ribeiro<sup>II</sup>; Carla Menger Lehueur<sup>II</sup>; Gustavo Felipe Lopes<sup>II</sup>; Samuel Carnesella<sup>II</sup>; Fernando Magalhães de Souza<sup>II</sup>, Andreane Fillappi<sup>I</sup>, Danívia Prestes<sup>I</sup>, Marcelo Cecim<sup>I</sup>

#### **Resumo**

O objetivo desse trabalho foi identificar as concentrações séricas de cobre e enzimas aspartatoaminotransferase (AST) e gamaglutamiltransferase (GGT), tanto em ovinos preparados para exposição como criados a campo, a fim de contribuir para a formação de valores de referência e auxiliar no diagnóstico e prognóstico da saúde desses animais. Colheram-se 120 amostras de sangue de animais de exposição e 110 de animais de campo, independente de sexo, raça e idade. Os níveis séricos médios de cobre, AST e GGT dos animais de exposição e a campo foi igual a  $66,14 \pm 9,76$  e  $62,01 \pm 16,36 \mu\text{g.dl}^{-1}$  ( $P < 0,0357$ );

---

<sup>I</sup> Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Departamento de Clínica de Grandes Animais, Universidade Federal de Santa Maria, (UFSM), Avenida Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: [mcecim@smail.ufsm.br](mailto:mcecim@smail.ufsm.br). Autor para correspondência.

<sup>II</sup> Departamento de Medicina Animal, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Avenida Bento Gonçalves, 9090, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

85,01  $\pm$ 40,02 e 65,58  $\pm$ 16,19 UI (P<0,0001); 41,02  $\pm$ 10,61 e 41,91  $\pm$ 9,49 UI, respectivamente. Em conclusão, as médias do elemento cobre de animais preparados para exposição mostraram-se dentro dos valores de referência e as de alguns animais mantidos a campo abaixo do intervalo fisiológico. Os níveis séricos de AST e GGT aumentados no grupo exposição parecem não estar relacionados com o acúmulo hepático de cobre.

Palavras chave: aspartatoaminotransferase, gamaglutamiltransferase, intoxicação crônica por cobre, ovinos.

### **Abstract**

The objective of the present work was to identify serum copper levels and aspartateaminotransferase (AST) and gamaglutamyl transferase (GGT) activity in purebred show and field raised sheep and to contribute to formation of regional reference values. Blood samples of 120 show sheep and 110 field raised animals were collected independently of age, sex and breed. Means serum levels of copper for show and field sheep 66.14  $\pm$  9.76 and 62.01  $\pm$ 16.36  $\mu$ g.dl<sup>-1</sup> (P<0.0357), respectively; AST activity was higher in show sheep than in field animals (85.01  $\pm$ 40.02 vs. 65.58  $\pm$ 16.19 IU, P<0.0001); GGT activity for same groups was 41.02  $\pm$ 10.61 and 41.91  $\pm$ 9.49 IU with no differences between them. In conclusion, serum copper levels in all show animals were within international reference values, whereas field raised animals presented several individuals that fell bellow the lower limit. Serum activity of AST and GGT appear not to be related to copper metabolism in these animals.

Key words: aspartatoaminotransferase, gamaglutamyltransferase, copper poisoning, sheep .

## Introdução

No Rio Grande do Sul (RS), após a crise da lã dos anos 70, a criação de ovinos com aptidão carne cresceu acentuadamente, tornando-se comum doenças de origem metabólica e nutricional, destacando-se a Intoxicação Crônica por Cobre (ICC).

Segundo SOLI (1980), os ovinos são mais vulneráveis a essa alteração do que outras espécies de produção, sendo que essa sensibilidade é atribuída ao mecanismo de excreção de cobre pelo sistema biliar ser menos eficiente (FIGUERA, 2001).

No RS, a ICC vem sendo diagnosticado em ovinos estabulados e alimentado com rações comerciais (RIBEIRO et al., 1995), pois esses animais recebem grande quantidade de ração em virtude da sua preparação para exposições. A primeira referência de ICC em ovinos no Brasil foi em 1966 em animais exibidos na Exposição Estadual de Animais de Porto Alegre, RS, sendo a ingestão continuada de dietas com altos níveis de cobre e situações estressantes como a viagem para a feira e a mudança de ambiente, fatores considerados determinantes para o desencadeamento desse quadro (GALVÃO & WILLIAMS, 1966). Mais recentemente, MÖLLERKE & RIBEIRO (2005) pesquisaram, por dois anos consecutivos, o teor de cobre em rações comerciais oferecidas a ovinos de uma feira agropecuária. Os valores médios encontrados foram  $11,3 \pm 3,0$  e  $16,3 \pm 7,0$  mg.kg<sup>-1</sup>, respectivamente, no primeiro e no segundo ano de observação. Conforme WELLS et al. (2000), esses valores encontram-se acima dos tolerados pela espécie, que é de até 10 mg.kg<sup>-1</sup> ao dia (CAVALHEIRO & TRINDADE, 1992). A ICC tem sido registrada em ovinos submetidos a dietas contendo valores superiores a 25 mg.kg<sup>-1</sup> de cobre e, quando esta dieta conter molibdênio e sulfato em quantidades inferiores às necessárias, acima de 15 mg.kg<sup>-1</sup> (RADOSTITS, 2007).

Mensurações das concentrações séricas das enzimas aspartatoaminotransferase (AST) e gamaglutamiltransferase (GGT), além do cobre, vêm sendo estudadas a fim de auxiliar no diagnóstico e tratamento dessa doença. De acordo com MÖLLERKE & BERNHARD (2002), a variação das concentrações enzimáticas encontradas a campo está diretamente relacionada ao tempo de exposição dos animais ao cobre. LEMOS et al. (1997) monitoraram grupos de ovinos através das concentrações séricas de AST e GGT. Cada animal recebeu, diariamente, quantidades entre 15 e 120 mg.kg<sup>-1</sup> de cobre. Os autores observaram elevação das concentrações de GGT entre duas e três semanas antes do surgimento dos sinais clínicos de ICC, sendo que as concentrações de AST elevaram-se somente durante ou imediatamente antes da crise hemolítica, e sugeriram que a avaliação das concentrações séricas de GGT seria o melhor parâmetro para avaliação prévia de lesão hepática.

Devido às divergências existentes na literatura sobre os valores fisiológicos de cobre, AST e GGT, e pela pouca informação de referência locais, foi conduzido o presente trabalho. O principal objetivo do mesmo foi verificar as concentrações séricas de cobre e enzimas AST e GGT em ovinos preparados para exposição e criados a campo, a fim de contribuir para a formação de valores de referência e auxiliar no diagnóstico e prognóstico da saúde desses animais.

## **Material e Métodos**

O presente experimento foi dividido em dois estudos. O primeiro estudo, denominado “grupo exposição” (GE), consistiu na colheita de amostras de sangue de ovinos criados para exposição. Todos os animais estavam presentes na 29ª edição da Exposição Internacional de Animais, Máquinas, Implementos e Produtos Agropecuários do Rio Grande do Sul (29ª Expointer), em Esteio, RS, e as coletas foram feitas nos meses de agosto e setembro de 2006;

o segundo grupo, denominado “grupo campo” (GC), consistiu na colheita de amostras de sangue de ovinos criados a campo no município de Pantano Grande, RS, em outubro de 2006.

Ambos os grupos foram selecionados ao acaso, independente de raça, sexo ou idade. Do GE, 120 animais, com idade variando entre um e dois anos, foram submetidos à colheita. Esses animais permaneciam em baias individuais, recebiam água *ad libidum* e alimentação baseada em ração comercial, feno e pastagem. Do GC, foram submetidos à colheita 110 animais, com idades variando entre um e quatro anos. Esses animais recebiam água *ad libidum* e sua alimentação baseada apenas em pastoreio de campo nativo.

As amostras de ambos os grupos foram colhidas através de punção da veia jugular, usado tubos vacutainer (Becton-Dickinson, Rutherford, NJ, USA) de 10 ml, sem anticoagulante. Foram centrifugadas a 2500 rpm, durante 15 minutos, e o soro armazenado em tubos de 1,5 ml do tipo *ependorf*, identificados e congelados para posterior análise.

A concentração sérica de AST e GGT foi determinada através de *kit* comercial (Labtest, Minas Gerais, Brasil), e do cobre sérico através de espectrofotometria de absorção atômica (Espectrofotômetro GBC 932AA, modo de absorção com chama de ar + acetileno), conforme técnica descrita por FICK et al. (1980) . A estatística constou de uma análise de variância ANOVA, sendo a comparação entre médias feita pelo teste “t” de Student.

## **Resultados e Discussão**

As médias dos resultados das análises de cobre, AST e GGT estão reunidos na tabela 1. As concentrações séricas de cobre dos dois grupos, na sua grande maioria, ficaram dentro dos padrões sugeridos por KANEKO et al. (1997) e UNDERWOOD & SUTTLE (1999). A análise dos dados, por outro lado, mostrou que quase a metade dos animais do GC (33/72) e alguns animais do GE (24/106) revelaram concentrações de cobre abaixo do nível mínimo



para a espécie mencionado na literatura. Esses resultados são mostrados graficamente na figura 1. Concentrações normais de cobre no soro de ovinos criados a campo no RS não são disponíveis, sendo os dados aqui apresentados a primeira referência na literatura. Casos de carência ou mesmo intoxicação por esse elemento não têm sido registrados em nosso meio. Os níveis de cobre verificados em pastagens do RS por GAVILON & QUADROS (1976) de  $5,3 \text{ mg.kg}^{-1}$  parecem suprir as necessidades da espécie. Entretanto, os mesmos autores encontraram níveis de molibdênio no pasto de  $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ , o que estaria nos valores limítrofes necessários para interferir com a absorção do cobre. Finalmente, a literatura cita valores de cobre sérico entre  $126$  e  $158 \text{ } \mu\text{g.dl}^{-1}$  como zona potencialmente hemolítica para a espécie ovina (KANEKO et al., 1997; UNDERWOOD & SUTTLE,1999). Tomando por base esses dados aqui apresentados, nenhum animal de ambos os grupos está dentro da zona de risco sugerida.

Os animais com concentrações séricas de cobre abaixo do mínimo indicado por KANEKO et al. (1997) podem estar sofrendo de carência do mineral ou aporte maior de minerais quelantes do cobre em sua alimentação. Conforme pesquisa anteriormente citada, pastagens do RS mostraram que essas não sofrem nem de excesso nem de carência de cobre. Foi, entretanto, identificada uma leve carência de molibdênio, mineral que obstaculiza a absorção de cobre. A falta de molibdênio para obstaculizar o maior aporte de cobre, causado pelo uso de concentrado, poderia ser o responsável pelas concentrações séricas de cobre mais elevadas, encontrado nas amostras dos animais do GE ( $66,14 \text{ } \mu\text{g.dl}^{-1}$ ), comparado com o GC, que foi de  $62,01 \text{ } \mu\text{g.dl}^{-1}$  ( $P < 0,001$ ).

As concentrações séricas de AST nos grupos estudados são mostradas na tabela 1 e na figura 2. É possível identificar que a grande maioria dos animais de ambos os grupos (162/198) está dentro dos padrões fisiológicos sugeridos para a espécie por KANEKO et al. (1997). Alguns animais do GC (5/97) têm suas concentrações séricas de AST acima dos

padrões fisiológicos. Dos animais do GE, um terço deles (34/101) está com as concentrações de AST acima do proposto pelos mesmos autores. As concentrações séricas médias de AST encontradas em ovinos no RS criados em pomares de macieiras e de videiras, adubadas com cama aviária, foram respectivamente 274 e 172 UI (RIBEIRO et al., 1995; RIBEIRO et al., 2007). Nesses casos, os animais estavam submetidos à dieta com níveis elevados de cobre, o que ocasionou a morte de vários deles. MÖLLERKE & BERNHARD (2002), estudando concentrações de AST em ovinos expostos em feira internacional, encontraram valores entre 274 e 339 UI, bem acima dos aqui relatados, mas também nesse caso os animais recebiam concentrado, o que poderia elevar o aporte de cobre. Assim, o valor médio da concentração sérica de AST encontrado no GC pode ser tomado normal para ovinos em pastoreio no RS.

Contrariamente do que foi observado para a AST, o valor encontrado da enzima GGT não revelou diferença entre os grupos. Os valores encontrados para essa enzima estão dentro da normalidade da espécie e bem abaixo dos considerados de risco de ICC, conforme mostram os dados da tabela 1 e figura 3.

## **Conclusões**

Como conclusões, pode-se sugerir que:

1. O resultado das análises das variáveis cobre e GGT mostrou-se dentro dos parâmetros fisiológicos indicados pelos autores, sugerindo que nenhum dos animais testados encontra-se dentro de zona de risco de ICC;
2. Há diferença estatística na análise da AST dos animais dos grupos campo e exposição. Essa diferença pode estar relacionada com o maior desafio hepático dos animais do grupo exposição, em virtude da carga alimentar que esses animais são submetidos na

preparação para a feira, além do estresse conferido pelo transporte e pela manutenção dos animais na feira;

3. Há uma relativa deficiência sérica de cobre nos animais do grupo campo, sugerindo uma possível deficiência na interação do mineral cobre e seus quelantes;

## Referências

CAVALHEIRO, A.C.L.; TRINDADE, D.S. **Os minerais para bovinos e ovinos criados em pastejo**. Porto Alegre: Sagra-Dc Luzzatto. 1992, 142p.

FICK, K.R. et al. **Métodos de análises de minerais em tecidos de animais e de plantas**. 2. ed. Gainesville: University of Florida, 1980.

FIGHERA, R.A. **Anemia em medicina veterinária**. Santa Maria: Pallotti, 2001, p.98-103.

GALVÃO, A.S., WILLIAMS, B.M. Sobre casos de envenenamento crônico por cobre em ovinos. **Bol IPVDF**, v.3, p.41-44, 1966.

GAVILLON, O.; QUADROS, A.T.F. O cobre, o molibdênio e o sulfato inorgânico em pastagens nativas do Rio Grande do Sul. **Anu Tec IPZFO**, v.3, p.423-453, 1976.

KANEKO, J. J. et al. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5.ed, San Diego: Academic Press, 1997, 932p.

LEMONS, R.A.A. et al. Alterações clínicas, patológicas e laboratoriais na intoxicação crônica por cobre em ovinos. **Cien Rur**, v.27, n.3, p.457-463, 1997.

MOLLERKE, R.O.; BERNHARD, E.A. Valor da aspartato transaminase no diagnóstico precoce da intoxicação crônica por cobre em ovinos. **Rev Bras Cien Vet**, v.9, n.2, p.110-113, 2002.

MÖLLERKE, R.O.; RIBEIRO, L.A.O. Aspectos epidemiológicos da intoxicação crônica por cobre em ovinos preparados para exposição. **Vet em Foco**, v.2 n.2, p.183-192, 2005.

RADOSTITS, O.M. et al. **Veterinary Medicine**, Edinburgh:Saunders Elsevier, p.1797-1849, 2007.

RIBEIRO, L.A.O. et al. Intoxicação crônica por cobre em ovinos mantidos em pomar de macieiras. **Pesq Vet Bras**, v.15, n.1, p.15-17, 1995.

RIBEIRO, L.A.O. et al. Intoxicação crônica por cobre em ovelhas pastoreadas em pomar de videiras adubado com cama aviária. **Braz J Vet Res An Sci**, v.44, n.3, p.208-211, 2007.

SOLI, N.E. Chronic copper poisoning in sheep. A review of the literature. **Nord Vet Med**, n.32, p.75-89, 1980.

UNDERWOOD, E.J., SUTTLE, N.F. **The mineral nutrition of livestock**. 3.ed, CABI Publishing Wallingford, UK, 1999.

WELLS, N.H. et al. Serum profiles in ewe lambs fed commercial feed with accidentally elevated copper and treated with calcium sulfate. **Amer Soc of An Sci**, v.51, 2000.

### **Agradecimentos**

À Vanessa Esteves, mestranda do Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias da UFRGS, pelo auxílio na preparação das amostras.

À professora Mariângela, à residente Ana Carolina e à laboratorista Fabiana, do Laboratório de Patologia Clínica da ULBRA, por disponibilizar os equipamentos para a análise das amostras.

Tabela 1. Concentrações séricas médias do elemento cobre e enzimas AST e GGT medidas em ovinos machos e fêmeas preparados para exposição e criados a campo na região da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul.

	<b>COBRE</b> (58-160 $\mu\text{g.dl}^{-1}$ )	<b>AST</b> (0-90 UI)	<b>GGT</b> (20-52 UI)
<b>EXPOSIÇÃO</b>	66,14 $\pm$ 9,76	85,01 $\pm$ 40,02	41,02 $\pm$ 10,61
<b>CAMPO</b>	62,01 $\pm$ 16,36	65,58 $\pm$ 16,19	41,91 $\pm$ 9,49

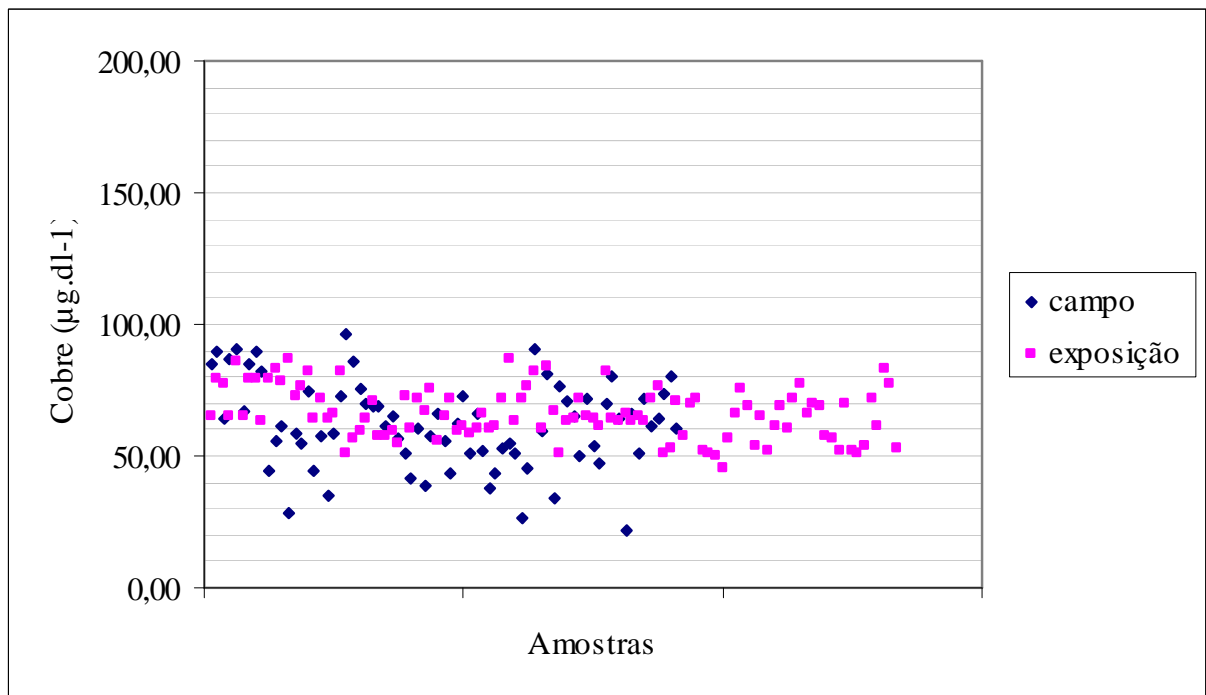


Figura 1. Concentrações séricas de cobre medidas em ovinos machos e fêmeas preparados para exposição e criados a campo na região da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul.

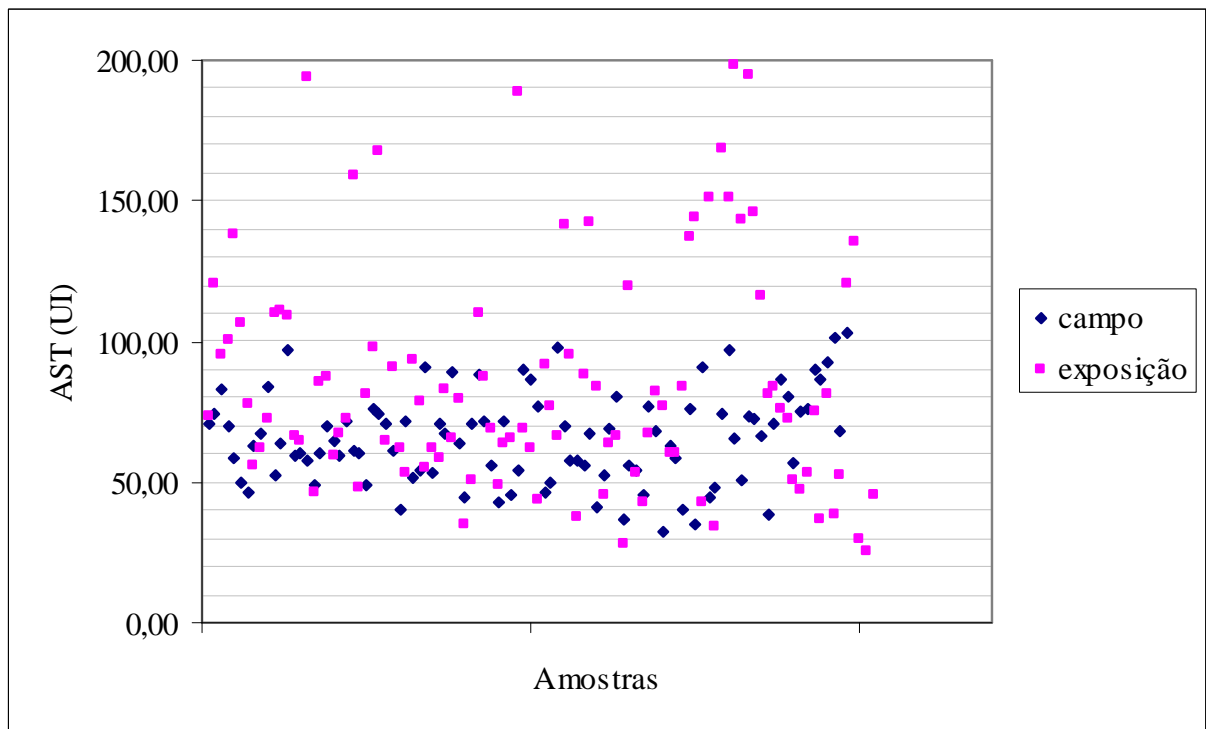


Figura 2. Concentrações séricas da enzima AST medidas em ovinos machos e fêmeas preparados para exposição e criados a campo na região da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul.

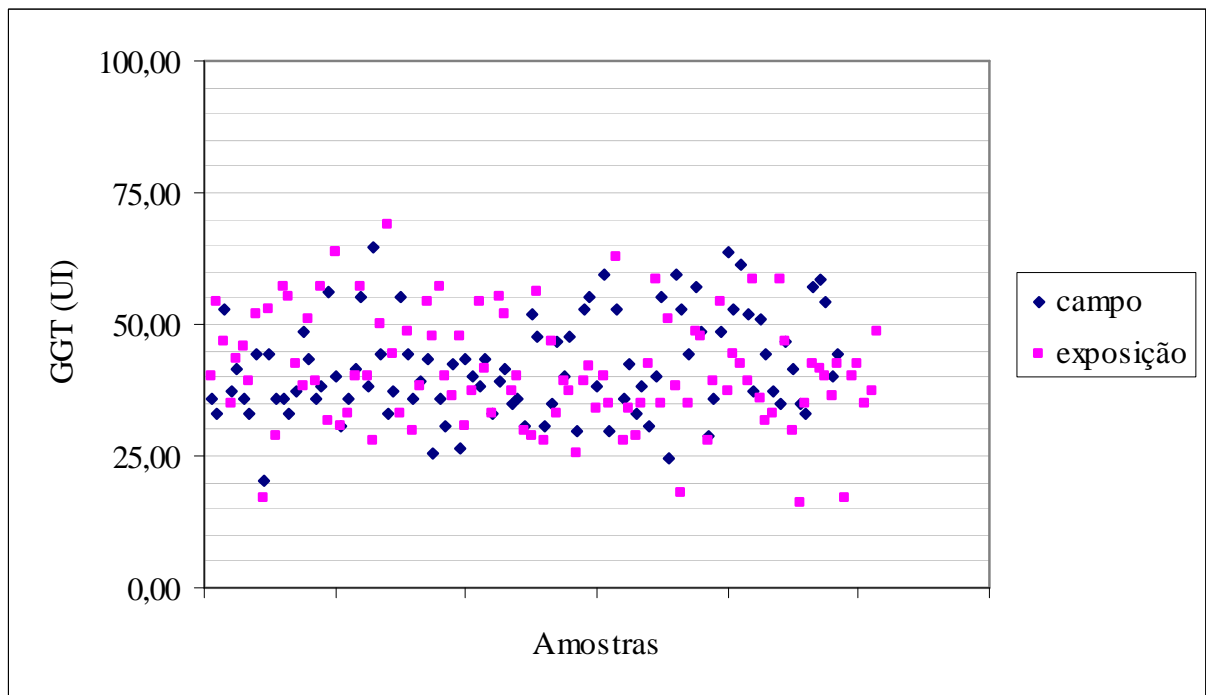


Figura 3. Concentrações séricas da enzima GGT medidas em ovinos machos e fêmeas preparados para exposição e criados a campo na região da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul.



## 4. REFERÊNCIAS

ALBINSON, H. E. **Diseases of domestic animals in Australia**: some metabolic diseases, deficiencies and toxæmias. Australia: Granville, 1975.

ANUALPEC – **Anual da Pecuária Brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria e Agroinformativos, 2003.

BELKNAP, E. B.; PUGH, D. G. **Enfermidades do sistema urinário**. In: PUGH, D.G. **Clinica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Rocca, 2005. p. 298.

BLAKLEY, B. R. **Copper poisoning**. In: THE MERCK VETERINARY MANUAL, USA, 2006. Disponível em: <http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/210700.htm&word=copper%2csheep>> Acesso em: 04 mar. 2007.

BLOOD, D. C.; RADOSTITS, O. M. **Veterinary medicine**. London: Baillière Tindall, 1989. 1121 p.

BOOM, R. Solo saudável, pasto saudável, rebanho saudável – a abordagem equilibrada. **CONFERÊNCIA VIRTUAL GLOBAL SOBRE PRODUÇÃO ORGÂNICA DE BOVINOS DE CORTE, 1.**, 2002, Concórdia. Disponível em: <http://www.cpap.embrapa.br/agencia/congressovirtual/pdf/portugues/03pt03.pdf>> Acesso em: 23 fev. 2007.

BOSTWICK, J. L. Copper toxicosis in sheep. **JAVMA**. Schaumburg, v. 80, n. 4, p. 386-387, fev., 1982.

BRIGHTLING, A. Sheep disease in Australia. In: \_\_\_\_\_ **Sheep Disease**. Melbourne: Inkata Press, 1988. p. 45-46.

CAVALHEIRO, A. C. L.; TRINDADE, D. S. **Os minerais para bovinos e ovinos criados em pastejo**. 1. ed. Porto Alegre: Sagra-Dc Luzzatto, 1992. 142 p.

FIGHERA, R. A. **Anemia em medicina veterinária**. Santa Maria: Pallotti, 2001. p. 98-103.

GALVAO DOS SANTOS, A.; WILLIAMS, B. M. Sobre casos de envenenamento crônico pelo cobre em ovinos. **Bol IPVDF**, Eldorado do Sul, n. 2, p. 41-44, mar./abr., 1966.

GAVILLON, O.; QUADROS, A. T. F. O cobre, o molibdênio e o sulfato inorgânico em pastagens nativas do rio grande do sul. **Anu Tec IPZFO**, Porto Alegre, v. 3, p. 423-453, 1976.

GRACE, N. D. **The mineral requirements of grazing ruminants**. Hamilton: New Zealand Society of Animal Production, 1983, 150 p.

HIDIROGLOU, M.; IVAN, M. Liver biopsy in sheep. **Vet Res**, Domaine de Vilvert, v. 24, n. 3, p. 260-265, 1993.

HUMPHRIES, W. R.; MORRICE, P. C.; BREMNER, I. A convenient method for the treatment of chronic copper poisoning in sheep using subcutaneous ammonium tetrathiomolybdate. **The Vet Rec**, London, v. 123, n. 2, p. 51-53, 1988.

KERR, L. A.; MCGAVIN, D. Chronic copper poisoning in sheep grazing pastures fertilized with swine manure. **JAVMA**, Schaumburg, v. 198, n. 1, p. 99-101, 1991.

KIMBERLING, C. V. Disease of the blood and blood forming system. In: \_\_\_\_\_ **Disease of sheep**. 3<sup>rd</sup>. ed. Philadelphia: Lea and Febiger, p. 372-374, 1988.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L.: **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5<sup>th</sup>. ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932 p.

LEMOS, R. A. A. et al. Alterações clínicas, patológicas e laboratoriais na intoxicação crônica por cobre em ovinos. **Cien Rur**, Santa Maria, v. 27, n. 3, p. 457-463, 1997.

MÉNDEZ, M. C. Intoxicação crônica por cobre. In: RIET-CORREA et al. **Doenças de ruminantes e eqüinos**. 2. ed. São Paulo: Varela. 2001. p.181-186.

MÖLLERKE, R. O.; BERNHARD, E. A. Valor da aspartato transaminase no diagnóstico precoce da intoxicação crônica por cobre em ovinos. **Rev Bras Cien Vet**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 2, p. 110-113, maio-ago., 2002.

MÖLLERKE, R. O.; RIBEIRO, L. A. O. Aspectos epidemiológicos da intoxicação crônica por cobre em ovinos preparados para exposição. **Vet em Foco**, Canoas, v. 2, n. 2, p. 183-192, 2005.

NAVARRE, C. B.; PUGH, D. G. Enfermidades do sistema gastrointestinal. In: PUGH, D.G. **Clinica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Rocca, 2005. p. 112-113.

PEREIRA, D., RIVERO, R.. Intoxicação crônica fitógena por cobre. In: RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. C.; SCHILD, A. L.. **Intoxicação por plantas e micotoxicoses em animais domésticos**. Pelotas: Hemisfério Sul do Brasil, 1993. p. 279-307.

PUGH, D. G. **Clínica de Ovinos e Caprinos**. São Paulo: Roca, 2004. 513 p.

RIBEIRO, L. A. O et al. Intoxicação crônica por cobre em ovinos mantidos em pomar de macieiras. **Pesq Vet Bras**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 1, p. 15-17, 1995.

RIBEIRO, L. A. O., RODRIGUES, N. C., SMIDERLE, W. A. Intoxicação crônica por cobre em ovelhas pastoreadas em pomar de videiras adubado com cama aviária. **Braz J Vet Res Anim Sci**, São Paulo, v. 44, n. 3, p. 208-211, 2007.

RODRIGUES, N. C. et al. Intoxicação crônica pelo cobre em ovinos durante a expointer: uma retrospectiva, enfatizando um método diagnóstico. **Arq Fac Vet UFRGS**, Porto Alegre, v. 23, p. 146-152, 1995.

SOLI, N. E. Chronic copper poisoning in sheep. a review of the literature. **Nord Vet Med**, Denmark, n. 32, p. 75-89, feb., 1980.

UNDERWOOD, E. J., SUTTLE, N. F. Copper. In:\_\_\_\_\_ **The mineral nutrition of livestock**. 3<sup>rd</sup>. ed. New York: CABI International, cap. 11, 1999. p. 283-342.

WELLS, N. H. et al. Serum profiles in ewe lambs fed commercial feed with accidentally elevated copper and treated with calcium sulfate. **Am Soc An Sci**, Las Cruces, v. 51, 2000.