Caracterização e frequência das alterações histológicas nos fígados de bovinos mantidos em pastagens de *Brachiaria* spp. provenientes de abatedouros no Brasil

Characterization and Frequency of Histological Changes
in Bovine Livers from Slaughterhouses in Brazil kept on *Brachiaria* spp.

Rebekah Rank Araújo¹, Rayane Chitolina Pupin², Renata Cunha Madureira³,
Luiz Gustavo de Moraes⁴, Lucas de Souza Quevedo⁵, Ricardo Antônio Amaral de Lemos²,
Ana Lúcia Schild⁵, Edson Moleta Colodel⁴ & Márcio Botelho de Castro¹

ABSTRACT

Background: *Brachiaria* spp. is the main pasture for ruminant productions in Brazil, but the limiting factor for its use is the toxicity due to the presence of steroidal saponins. Chronic ingestion of *Brachiaria* spp. by cattle may cause liver changes such as fibrosis, bile duct proliferation and clusters of foamy macrophages in the hepatic parenchyma. The main objective of the present study was to evaluate the most frequent histological changes and their frequencies in livers collected in abattoirs in Brazil from beef cattle raised exclusively on *Brachiaria* spp. and compare them with those observed in animals kept in *Andropogon* spp. grass and native pastures in Rio Grande do Sul.

Materials, Methods & Results: Liver samples without macroscopic changes were collected in abattoirs from 561 healthy Nelore and Nelore crossbred cattle raised in *Brachiaria* spp. pastures from Mato Grosso (MT), Mato Grosso do Sul (MS), Minas Gerais (MG) and Pará (PA) States. Liver samples from 84 Angus cattle (*Bos taurus*) kept on native pastures in Rio Grande do Sul (RS) and from 60 Nelore and Nelore crossbred cattle raised in *Andropogon* spp. pastures in Tocantins State (TO) were collected as control. Semi-quantitative analysis of the histopathological changes were proceeded: (-) = no change; (+) = slight or discreet change; (++) = moderate change and (+++) = marked change. The main histopathological changes evaluated in the liver samples were the presence of foamy macrophages and its location, parenchymal fibrosis and its location, proliferation of bile ducts, periportal mononuclear infiltrate, presence of crystals in macrophages and within the bile ducts. Foamy macrophages clusters in the liver parenchyma were the most frequent histological changes exclusively observed in samples of animals kept in *Brachiaria* spp. and it was more frequent in cattle from MS State ($P < 0.0001$). The periportal hepatic fibrosis was another relevant finding in cattle kept in *Brachiaria* spp. and was also more frequent in MS animals ($P \leq 0.0001$), and was not present in control groups. Proliferation of the bile ducts rate was similar between animals raised in *Brachiaria* spp. ($P > 0.05$), though it was higher in cattle kept on native pasture in RS ($P < 0.0001$). The mononuclear periportal inflammatory infiltrate was more frequent in MS and MG samples than in MT and PA ($P < 0.0002$).

Discussion: The most significant histopathological changes observed in liver samples of cattle from the states of MT, MS, PA and MG kept in *Brachiaria* spp. pastures from the birth to slaughter, was the presence of foamy macrophages in quantities and variables distribution showing the strengthen association between clusters of foamy macrophages in the liver parenchyma and grazing on this grass. These macrophages could be found in healthy animals kept in *Brachiaria* spp. pastures and in intoxicated animals. This change was considered frequent and characteristic in animals kept in pastures containing steroidal lithogenic saponins in its composition, and it was frequently observed in ruminants that grewed in *Brachiaria* spp. pastures. Beef cattle kept in *Andropogon* spp. grass pastures in the state of Tocantins and native pastures in Rio Grande do Sul did not showed foamy macrophages in liver samples. On the other hand, in susceptible sheep kept in *Andropogon* spp. grass pastures that contains low amount of lithogenic steroidal saponins, are insufficient to induce toxicity and morphological changes in the liver, including aggregates of foamy macrophages.

Keywords: inspection, pathology, fibrosis, inflammation, foamy macrophages.

Descritores: inspeção, patologia, fibrose, inflamação, macrófagos espumosos.

Received: 25 October 2016

Accepted: 26 March 2017

Published: 19 April 2017

Article based on a Thesis submitted by the senior author in partial fulfillment of requirements for the Master's Degree at the Programa de Pós-graduação em Saúde Animal, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brazil. ¹Laboratório de Patologia Veterinária, Faculdade de Agronomia e Veterinária (FAV), UnB, Brasília. ²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, MS, Brazil. ³Fiscalização Federal Agropecuária, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Campo Grande, MS. ⁴Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT. ⁵Laboratório Regional de Diagnóstico (LRDV), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPe), Pelotas, RS. CORRESPONDENCE: M.B. Castro [mbcastro@unb.br - Tel.: +55 (61) 3107-2808]. Laboratório de Patologia Veterinária, Hospital Veterinário UnB - Via L4 Norte, sn. Campus Universitário Darcy Ribeiro. Bairro Asa Norte. CEP 70910-970 Brasília, DF, Brazil.

INTRODUÇÃO

A *Brachiaria* spp. é a forrageira mais utilizada na alimentação animal no Brasil central, pois se adapta bem às condições adversas desta região, como solos ácidos, pobres em nutrientes e longos períodos de estiagem [3,7].

As principais lesões associadas à ingestão crônica de *Brachiaria* spp. em ruminantes observadas em abatedouros envolvem principalmente o fígado e são caracterizadas histologicamente por agregados de macrófagos espumosos, fibrose, proliferação de ductos biliares e infiltrado inflamatório mononuclear periportal [5-7,9,21]. Os agregados de macrófagos espumosos que caracteristicamente são encontrados nos fígados desses animais [5,7], até o momento, são evidenciados apenas por suas características morfológicas, podendo dificultar a identificação celular e determinação dessas lesões. Apesar da reconhecida importância e das alterações patológicas observadas em ruminantes intoxicados pela gramínea, pouco se conhece sobre a frequência das alterações hepáticas em bovinos abatidos mantidos em pastagens de *Brachiaria* spp. [18].

Este trabalho teve como objetivo mensurar a frequência e intensidade das alterações histológicas hepáticas em bovinos criados exclusivamente em pastagens de *Brachiaria* spp., abatidos para o consumo humano em importantes regiões pecuárias do país. Foi realizada a comparação dessas observações com as determinadas em bovinos mantidos em pastos de capim *Andropogon* spp. e em pasto nativo no Rio Grande do Sul no intuito de reforçar a associação entre as lesões observadas e a ingestão da gramínea. A caracterização imunofenotípica das células de citoplasma espumoso encontradas nos fígados desses animais visou confirmar a origem macrofágica dessas células.

MATERIAIS E MÉTODOS

Delineamento experimental

Foram colhidas na linha de inspeção de abatedouros nas principais regiões de pecuária do Brasil, amostras de fígados sem alterações macroscópicas e destinados ao consumo, de 561 bovinos hígidos, nelores e mestiços (*Bos indicus*), mantidos desde o nascimento até o abate em regime extensivo em pastagens de *Brachiaria* spp. As amostras hepáticas foram provenientes de animais dos estados do Pará

(n = 60, São Félix do Xingú), Mato Grosso (n = 259, Paranatinga e região), Mato Grosso do Sul (n = 146, Campo Grande e região) e Minas Gerais (n = 96, Unai e região). Para controle, foram colhidos fragmentos hepáticos de bovinos com predomínio racial Angus (*Bos taurus*), mantidos desde o nascimento até o abate em piquetes de pasto nativo no Rio Grande do Sul (n = 84, Pelotas e região) e de nelores e mestiços criados em pastos de *Andropogon* spp. no Tocantins (n = 60, Gurupi e região).

Em cada Estado foi feita a colheita de amostras nas linhas de inspeção de animais entre 2 e 4 anos de idade, de diferentes lotes escolhidos aleatoriamente, sem separação por sexo.

Análise microscópica

As amostras colhidas foram fixadas em formalina tamponada a 10%, clivadas, processadas e incluídas em blocos de parafina, seccionadas a 5 µm de espessura e as lâminas coradas por hematoxilina-eosina (HE) para avaliação em microscopia de luz.

Foi realizada análise semi-quantitativa das alterações histopatológicas: (-) = ausência de alteração; (+) = alteração discreta ou leve; (++) = alteração moderada e (+++) = alteração acentuada. As alterações histopatológicas hepáticas avaliadas foram a presença e localização de macrófagos espumosos, fibrose do parênquima e localização, proliferação de ductos biliares, infiltrado mononuclear periportal, presença de cristais em macrófagos e no interior de ductos biliares.

Imuno-histoquímica

Foram selecionados cortes histológicos hepáticos de quatro bovinos mantidos em pastagens de *Brachiaria* spp. com agregados de células com citoplasma espumoso para imuno-histoquímica. As secções de fígado foram desparafinizadas em xilol, passadas em álcool absoluto e em concentrações decrescentes de álcool hidratado até serem imersas em água destilada. Foi utilizada a técnica da avidina biotina peroxidase, com recuperação antigênica pelo calor sob pressão [15] empregando-se o kit LSAB2 HRP (Dako)¹ e visualizadas com o cromógeno diaminobenzidina (DAB+ kit)¹. Os cortes histológicos foram incubados em geladeira (4°C) por 12 h com anticorpo monoclonal anti-CD68 (clone EBM11)¹, na diluição de 1:100 e com o anticorpo policlonal anti-lisozima (EC 3.2.1.17)¹, na diluição 1:400. Foram utilizadas

secções histológicas de linfonodo de bovino como controle positivo para a reação.

Análise estatística

A análise estatística dos resultados da avaliação histológica de todas as amostras hepáticas de bovinos criados e mantidos em pastagens de *Brachiaria* spp. foi realizada e as frequências foram comparadas com as observadas nos grupos controles através do teste exato de Fisher. A comparação entre as frequências das alterações hepáticas também foi aplicada entre os animais dos diferentes Estados e entre os animais controle mantidos em campo nativo no RS e em pastos de *Andropogon* spp. em TO. Foi realizada análise de correlação entre as variáveis analisadas e entre as diferentes localidades e pastagens.

RESULTADOS

O resultado da análise histopatológica dos fígados dos bovinos é apresentado na Tabela 1. As principais alterações encontradas foram agregados aleatórios de macrófagos espumosos (Figura 1A), fibrose, proliferação de ductos biliares, infiltrado mononuclear periportal (Figura 1B) e imagem negativa de material cristalóide no citoplasma de macrófagos (Figura 2A). Não foram observadas imagens negativas de cristais no interior dos ductos biliares nas amostras analisadas.

A análise imuno-histoquímica das amostras de fígado dos animais selecionados demonstrou forte imunomarcagem das células espumosas, dispostas em agregados aleatórios, para CD 68 (Figura 2B) e lisozima em todas as amostras testadas. Na Tabela 2 são apresentados os resultados da análise estatística das frequências das alterações observadas nos fígados dos bovinos nos pastos de *Brachiaria* spp., *Andropogon* spp. (TO) e pasto nativo (RS). Não houve correlação entre as variáveis histológicas analisadas ou entre as alterações observadas nos animais nas diferentes pastagens.

DISCUSSÃO

O presente estudo foi capaz de demonstrar que o consumo da gramínea pode provocar alterações histológicas frequentes nos fígados de bovinos abatidos nas principais regiões produtoras brasileiras, refletindo a ampla utilização das forrageiras do gênero *Brachiaria* na pecuária e sua reconhecida hepatotoxicidade.

Dentre as principais alterações observadas no fígado de bovinos provenientes de abatedouros dos estados de MT, MS, PA e MG mantidos em pastagens de braquiária desde o nascimento até o abate, destacou-se a presença de agregados de macrófagos com citoplasma espumoso, em quantidade e distribuição variáveis. Essa alteração é considerada característica em animais mantidos em pastagens que contêm saponinas esteroidais litogênicas em sua composição é frequentemente observada em ruminantes criados em piquetes de *Brachiaria* spp. [2,5,7,11,14,17,22]. Entretanto, é importante ressaltar que os agregados hepáticos de células espumosas são característicos da ingestão crônica da gramínea pelos bovinos [5,14], o que difere da forma aguda da intoxicação pela planta que é frequentemente observada em ovinos, onde esse tipo celular é encontrado difusamente no interior dos sinusóides hepáticos [3,9,17]. Até o momento, não há informações para a diferenciação morfológica ou funcional dessas células espumosas encontradas em ambas as situações.

A avaliação imuno-histoquímica dos agregados hepáticos de células com citoplasma espumoso, provenientes das amostras de bovinos em criação extensiva em piquetes de *Brachiaria* spp., permitiu caracterizá-las como de origem histiocítica/macrofágica [15].

Os macrófagos espumosos podem ser encontrados tanto em animais saudáveis mantidos em pastagens de *Brachiaria* spp. que são abatidos, quanto em intoxicados [8,17,21]. Essas células apresentam citoplasma de aspecto espumoso e núcleo periférico, proeminente hiperplasia do retículo endoplasmático liso, material cristalóide intracitoplasmático no interior de estruturas formadas por membranas, semelhantes a fagolisossomos, e característica marcação na lectino-histoquímica por *Arachis hypogae* aglutinina (PNA) [3,11].

Nos fígados dos bovinos do estado de MS, onde *Brachiaria* spp. é considerada a principal causa de intoxicação por plantas em bovinos [22], houve uma frequência maior de macrófagos espumosos em comparação às observadas nos estados de MT, MG e PA. É possível que essa diferença seja decorrente do maior teor de saponinas nas gramíneas naquele estado, devido às variações de toxicidade e climáticas, cultivares mais tóxicos ou fatores regionais ainda desconhecidos [1,12,20,22].

Figura 1. A- Fígado de bovino. Agregados de macrófagos espumosos (setas) em animal do MS mantido em pastagens de *Brachiaria* spp. [HE]. B- Imagem negativa de cristais (setas) intracitoplasmáticos em macrófagos espumosos em bovino do MS mantido em pastagens de *Brachiaria* spp. [HE].

Figura 2. A- Fígado de bovino. Infiltrado inflamatório mononuclear periportal (seta) em animal de MG mantido em pastagens de *Brachiaria* spp. [HE]. B- Imunomarcção para CD68 em macrófagos espumosos de bovino do MS mantido em pastagens de *Brachiaria* spp. [Imunoperoxidase].

Tabela 1. Alterações histopatológicas nos fígados de bovinos mantidos em pastagens de *Brachiaria* spp., capim nativo e *Andropogon* spp. no Brasil.

Origem	Pastagem	MØs espumosos (%)				Fibrose (%)				PDB (%)	IMP (%)	CR MØs (%)			
		Localização				Localização									
TOTAL (n=561)	BRACH	+++	1,8	Vasos e ductos	3,2	+++	0				+++	0			
		++	8,0	Vasos	7,0	++	0,9	periportal	91,7	+	18,5	++	2,1	+	2,1
		+	56,5	Ductos	17,8	+	26,9	pericapsular	8,3	-	81,5	+	43,1	-	97,9
		-	33,7	Aleatória	72,0	-	72,2					-	55,8		
MT (n=259)	BRACH	+++	1,2	Vasos e ductos	2,9	+++	0				+++	0			
		++	10,0	Vasos	5,9	++	0,8	periportal	89,3	+	19,3	++	0,4	+	0,8
		+	54,1	Ductos	19,4	+	20,8	pericapsular	10,7	-	80,7	+	33,1	-	99,2
		-	34,7	Aleatória	71,8	-	78,4					-	66,5		
MS (n=146)	BRACH	+++	4,1	Vasos e ductos	2,4	+++	0				+++	0			
		++	8,9	Vasos	13,1	++	1,4	periportal	92,1	+	20,5	++	4,1	+	0,7
		+	70,5	Ductos	6,5	+	50,7	pericapsular	7,9	-	79,5	+	55,5	-	99,3
		-	16,4	Aleatória	78,0	-	47,9					-	40,4		
MG (n=96)	BRACH	+++	0	Vasos e ductos	7,8	+++	0				+++	0			
		++	4,2	Vasos	1,9	++	1,0	periportal	93,4	+	10,4	++	4,2	+	1,0
		+	47,9	Ductos	15,7	+	13,5	pericapsular	6,6	-	89,6	+	52,1	-	99,0
		-	47,9	Aleatória	74,6	-	85,5					-	43,7		
PA (n=60)	BRACH	+++	1,7	Vasos e ductos	0	+++	0				+++	0			
		++	3,3	Vasos	22,6	++	0	periportal	100	+	23,3	++	1,7	+	13,3
		+	46,6	Ductos	32,2	+	16,7	pericapsular	0	-	76,7	+	41,6	-	86,7
		-	48,4	Aleatória	45,2	-	83,3					-	56,7		
RS (n=84)	NATIVO	+++	0	Vasos e ductos	-	+++	0				+++	0			
		++	0	Vasos	-	++	3,6	periportal	100	++	3,6	++	1,2	+	-
		+	0	Ductos	-	+	10,7	pericapsular	0	+	47,6	+	8,3	-	-
		-	100	Aleatória	-	-	85,7					-	90,5		
TO (n=60)	ANDROP	+++	0	Vasos e ductos	-	+++	0				+++	0			
		++	0	Vasos	-	++	0	periportal	100	+	-	++	1,9	+	-
		+	0	Ductos	-	+	1,9	pericapsular	0	-	-	+	30,8	-	-
		-	100	Aleatória	-	-	98,1					-	67,3		

BRACH: capim *Brachiaria* spp.; NATIVO: capim nativo; ANDROP: capim *Andropogon*, MØs espumosos: macrófagos espumosos; PDB: proliferação de ductos biliares; IMP: infiltrado inflamatório mononuclear periportal; CR MØs: presença de cristais intracitoplasmáticos em macrófagos. Intensidade das alterações: +++ acentuado, ++ moderado, + leve ou discreto, - ausente.

Tabela 2. Interpretação da análise das frequências das alterações histológicas no fígado dos bovinos criados em Pastos de *Brachiaria* spp., *Andropogon* spp. (TO) e Pasto nativo (RS).

Parâmetro			P	
MØs espumosos				
*	MS	>	MT	$P \leq 0,0001$
*	MS	>	MG	$P \leq 0,0001$
*	MS	>	PA	$P \leq 0,0001$
	MT	>	MG	$P \leq 0,0282$
	MT	=	PA	$P \geq 0,05$
	MG	=	PA	$P \geq 0,05$
*	BRAQ.TOTAL	>	ANDROPOGON - TO	$P \leq 0,0001$
*	BRAQ.TOTAL	>	NATIVO - RS	$P \leq 0,0001$
Fibrose				
*	MS	>	MT	$P \leq 0,0001$
*	MS	>	MG	$P \leq 0,0001$
*	MS	>	PA	$P \leq 0,0001$
	MT	=	MG	$P \geq 0,05$
	MT	=	PA	$P \geq 0,05$
	MG	=	PA	$P \geq 0,05$
*	BRAQ.TOTAL	>	ANDROPOGON - TO	$P \leq 0,0001$
*	BRAQ.TOTAL	>	NATIVO - RS	$P \leq 0,0001$
Prol. Duct Biliar				
	MS	=	MT	$P \geq 0,05$
	MS	=	MG	$P \geq 0,05$
	MS	=	PA	$P \geq 0,05$
	MT	=	MG	$P \geq 0,05$
	MT	=	PA	$P \geq 0,05$
	MG	=	PA	$P \geq 0,05$
*	BRAQ.TOTAL	>	ANDROPOGON - TO	$P \leq 0,0039$
*	BRAQ.TOTAL	<	NATIVO - RS	$P \leq 0,0001$
Inf. Mono P.				
*	MS	>	MT	$P \leq 0,0001$
	MS	=	MG	$P \geq 0,05$
*	MS	>	PA	$P \leq 0,0448$
*	MT	<	MG	$P \leq 0,0002$
	MT	=	PA	$P \geq 0,05$
	MG	=	PA	$P \geq 0,05$
	BRAQ.TOTAL	=	ANDROPOGON - TO	$P \geq 0,05$
*	BRAQ.TOTAL	>	NATIVO - RS	$P \leq 0,0001$

*Comparação entre as frequências com significância estatística. BRAQ.TOTAL: todos bovinos mantidos em pastagens de *Brachiaria* spp.; MØs espumosos: macrófagos espumosos; Prol. Duct Biliar: proliferação de ductos biliares; Inf. Mono P.: infiltrado inflamatório mononuclear periportal. Não houve correlação positiva ou negativa entre as variáveis MØs espumosos, fibrose, proliferação de ductos biliares e inflamação mononuclear periportal. MS: Estado do Mato Grosso do Sul; MT: Estado do Mato Grosso; MG: estado de Minas Gerais; PA: Estado do Pará; TO: Estado do Tocantins; RS: Estado do Rio Grande do Sul.

Apesar das diferenças na frequência de macrófagos espumosos entre os bovinos do estado de MS e dos outros locais avaliados, é importante considerar que essas células estavam presentes na maior parte dos fígados examinados. O critério de seleção utilizado para a colheita de amostras determinou que os animais devessem ter permanecido desde o nascimento até o abate em pastagens de *Brachiaria* spp., o que pode ter contribuído para a elevada frequência dessa alteração. Ruminantes mantidos por longos períodos em pastagens de *Brachiaria* spp. apresentam alterações histológicas hepáticas mais frequentes e intensas, especialmente a presença de agregados de macrófagos espumosos [6,21].

Nas amostras de fígado de bovinos provenientes de pastagens de capim *Andropogon* spp. no TO e pasto nativo no RS, não foram encontrados macrófagos espumosos. Em pastagens de *Andropogon* spp. é conhecido o baixo teor de saponinas esteroidais litogênicas, que são insuficientes para induzir intoxicação em ovinos susceptíveis e alterações morfológicas no fígado, incluindo os agregados de macrófagos espumosos [12]. Até o presente momento é desconhecida a existência de plantas tóxicas em pastagens nativas no RS que determinem a presença de macrófagos espumosos e de material cristalóide em seu interior. A ausência de agregados de células espumosas nos fígados desses bovinos reforça que sua presença está associada à exposição dos animais a pastagens de *Brachiaria* spp.

A observação de estruturas cristalóides no interior de macrófagos nos fígados dos bovinos avaliados foi discreta e de baixa frequência em todas as localidades, e não havia material cristalóide no interior de ductos biliares. Essas alterações são semelhantes ao observado em amostras de bovinos e bubalinos sadios de abatedouro, onde são raramente observadas [5,21] e contrastam com animais intoxicados por *Brachiaria* spp. onde são frequentes e estão associadas à obstrução de vias biliares e a colestase [3,7,14,17].

Os mecanismos envolvidos na formação desses cristais no fígado não são completamente elucidados, porém acredita-se que sejam formados a partir da conjugação das saponinas com sais de cálcio [7,11,16]. A presença de material cristalóide no interior de ductos biliares é uma alteração importante em animais intoxicados por *Brachiaria* spp., que pode resultar em colangiopatia, obstrução de vias biliares

e fotossensibilização hepatógena [3,14,17]. É importante considerar, que todos os bovinos avaliados nesse estudo, encontravam-se hígidos e foram destinados ao consumo humano, o que poderia justificar a ausência dessa lesão nas vias biliares.

A fibrose discreta/leve foi outra alteração histológica importante no fígado de bovinos abatidos e que eram mantidos em pastagens de *Brachiaria* spp. A distribuição da fibrose foi predominantemente periportal e menos comumente subcapsular. Essa alteração, apesar de frequente, não causou lesões macroscópicas significativas nos fígados e condenação do órgão. Entretanto, é importante ressaltar que a fibrose hepática foi mais frequente em bovinos abatidos em MS que em animais dos outros estados. Os bovinos criados e mantidos em pastagens de *Brachiaria* spp. apresentaram frequência maior de fibrose hepática em comparação aos animais mantidos em *Andropogon* spp. e pasto nativo no RS.

A fibrose periportal em grau discreto foi descrita anteriormente em fígados de bovinos abatidos no MT mantidos em pastagens de *Brachiaria* spp. [11]. A ingestão crônica de *Brachiaria* spp. é apontada como uma importante causa de condenação de fígados de bovinos na linha de inspeção de abate em um frigorífico em Campo Grande, promovendo perdas econômicas na ordem de R\$ 1.000.000,00 em um ano [8]. O processo de fibrose hepática é complexo e multifatorial, porém é possível especular que em animais mantidos em pastos de *Brachiaria* spp., a fibrose seja provocada pelo processo inflamatório no local e pela lesão em ductos biliares [4].

A proliferação de ductos biliares foi discreta em todos os animais mantidos em pastos de *Brachiaria* spp. e não foi notada em bovinos criados em capim *Andropogon* spp. É um fenômeno comum em processos diversos de injúria hepática, sendo frequente em animais intoxicados por *Brachiaria* spp. [4,8,17]. Essa alteração foi mais intensa em bovinos criados em pasto nativo no RS, e poderia estar relacionada ao consumo de *Senecio* spp., planta comumente presente nos pastos nativos do RS e que contém alcalóides pirrolizidínicos indutores da proliferação das vias biliares [10,13].

A avaliação do infiltrado mononuclear periportal, aparentemente foi um achado inespecífico, apesar de mais frequente em amostras de fígado de bovinos pastejando em *Brachiaria* spp. que em bovinos criados em pasto nativo no RS e em pastagem de *Andropogon*

spp. no Tocantins. Em animais intoxicados por *Brachiaria* spp. é frequente a presença de infiltrado mononuclear periportal que pode apresentar intensidade variável [2,19,22]. Apesar da maior frequência desse infiltrado inflamatório nas amostras de MS e de MG em comparação às outras localidades com o mesmo tipo de gramínea, não foi possível caracterizar sua causa ou mesmo correlacionar com as frequências de agregados de macrófagos espumosos ou com fibrose hepática.

Apesar de haverem sido avaliadas somente as alterações histológicas hepáticas em animais hígidos abatidos em várias regiões do Brasil, demonstrou-se que a utilização da gramínea na cadeia produtiva da carne afeta um grande número de animais. É possível que a ingestão de *Brachiaria* spp. possa acarretar perdas financeiras significativas para a atividade pecuária. Torna-se premente uma avaliação mais abrangente nas principais regiões produtoras de carne bovina no País para estimar o real impacto econômico causado e comparar aos benefícios da utilização dessas pastagens, visando propor soluções para minimizar seus efeitos.

CONCLUSÕES

Nesse estudo foi demonstrada a elevada frequência de alterações hepáticas microscópicas em bovinos, abatidos para consumo humano, mantidos em pastagens de *Brachiaria* spp., especialmente

a presença de agregados aleatórios de macrófagos espumosos. No estado de Mato Grosso do Sul, essas alterações foram mais frequentes do que em outras localidades.

Bovinos mantidos desde o nascimento até o abate em piquetes de *Brachiaria* spp. apresentaram exclusivamente, ou com maior frequência, alterações histológicas hepáticas em comparação aos animais criados em pastagens de capim *Andropogon* spp. e pasto nativo no RS. Essas observações reforçam a associação entre a ingestão prolongada de *Brachiaria* spp. e a presença de agregados de macrófagos espumosos nos fígados desses animais.

Os agregados aleatórios de células espumosas nos fígados dos animais mantidos em pastagens de *Brachiaria* spp. são formados por macrófagos/histiócitos que apresentam imunomarcagem para CD68 e lisozima.

MANUFACTURER

¹Dako North America Inc. Carpinteria, CA, USA.

Acknowledgements. Ao M.V. Bernardo Camargo Franco Barbosa pela disponibilização e colaboração nas coletas das amostras de Paranatinga - MT, Brazil.

Declaration of interest. This manuscript has never been published. The authors are in agreement with statements and requirements for publication. None of the authors have any conflict of interest to declare.

REFERENCES

- 1 Brum K.B., Haraguchi M., Garutti M.B., Nóbrega F.N., Rosa B. & Fioravanti M.C.S. 2009. Steroidal saponin concentrations in *Brachiaria decumbens* and *B. brizantha* at different developmental stages. *Ciência Rural*. 39(1): 279-281.
- 2 Brum K.B., Haraguchi M., Lemos R.A.A., Riet-Correa F. & Fioravante M.C. 2007. Crystal associated cholangiopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens* containing the saponin protodioscin. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 27(1): 39-42.
- 3 Castro M.B., Santos Jr. H.L., Mustafa V.S., Gracindo C.V., Moscardini A.C.R., Louvandini H., Paludo G.R., Borges J.R.J., Haraguchi M., Ferreira M.B. & Riet-Correa F. 2011. *Brachiaria* spp. poisoning in sheep in Brazil. Experimental and epidemiological findings. In: Riet-Correa F., Pfister J., Schild A.L. & Wierenga T. (Eds). *Poisoning by Plants, Mycotoxins and related Toxins*. London: CAB International, pp.110-117.
- 4 Cruz C.E.F., Driemeier D., Pires V.S. & Schenkel E.P. 2001. Experimentally induced cholangiopathy by dosing sheep with fractionated extracts from *Brachiaria decumbens*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 13(2): 170- 172.
- 5 Driemeier D., Barros S.S., Peixoto P.V., Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Brito M.F. 1998. Estudos histológico, histoquímico e ultra-estrutural de fígados e linfonodos de bovinos com presença de macrófagos espumosos ("foam cells"). *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 18 (1): 29-34.
- 6 Driemeier D., Colodel E.M., Seitz A.L., Barros S.S. & Cruz C.E.F. 2002. Study of experimentally induced lesions in sheep by grazing *Brachiaria decumbens*. *Toxicon*. 40(7): 1027-1031.
- 7 Driemeier D., Döbereiner J., Peixoto P.V. & Brito M.F. 1999. Relação entre macrófagos espumosos ("foam cells") no fígado de bovinos e ingestão de *Brachiaria* spp. no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 19(2): 79-83.

- 8 Faccin T.C., Brumatti R.C., Lima S.C., Madureira R.C., Fernandes C.E.S., Kommers G.D. & Lemos R.A.A. 2015. Perdas econômicas pela condenação em matadouro frigorífico de fígados de bovino por fibrose causada por ingestão de *Brachiaria* spp. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 35(6): 547-551.
- 9 Faccin T.C., Franklin R.C., Rodrigues F.S., Santos A.C., Melo G.K.A., Silva J.A., Ferreira R., Ítavo C.C.B.F. & Lemos R.A.A. 2014. Poisoning by *Brachiaria brizantha* in flocks of naïve and experienced sheep. *Toxicon*. 82(5): 1-8.
- 10 Giarretta P.R., Panziera W., Hammerschmitt M.E., Bianchi R.M., Galiza G.J.N., Wiethan I.S., Bazzi T. & Barros C.S.L. 2014. Clinical and pathological aspects of chronic *Senecio* spp. poisoning in sheep. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 34(10): 967-973.
- 11 Gomar M.S., Driemeier D., Colodel E.M. & Gimeno E.J. 2005. Lectin histochemistry of foam cells in tissues of cattle grazing *Brachiaria* spp. *Journal of Veterinary Medicine A*. 52(1): 18-21.
- 12 Gracindo C.V., Louvandini H., Riet-Correa F., Ferreira M.B. & Castro M.B. 2014. Performance of sheep grazing in pastures of *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria brizantha*, *Panicum maximum*, and *Andropogon gayanus* with different protodioscin concentrations. *Tropical and Animal Health Production*. 46(5): 733-737.
- 13 Grecco F.B., Silva E.P., Pereira C.M., Soares M.P., Collares G. & Schild A.L. 2011. Seneciose crônica em ovinos no sul do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 31(4): 326-330.
- 14 Lemos R.A.A., Ferreira L.C.L., Silva S.M., Nakato L. & Salvador S.C. 1996. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em ovinos em pastagem de *Brachiaria decumbens*. *Ciência Rural*. 26(1): 109-113.
- 15 Matsuda K., Sakaguchi K., Yamamoto S., Higashi T., Suzuki K., Taguchi K., Koiwa M. & Taniyama H. 2009. Two Cases of Bovine Sarcoma in Clinically Long-Standing Lesions. *Journal of Veterinary Medical Science*. 71(2): 221-224.
- 16 Miles C.O., Wilkins A.L., Erasmus G.L., Kellerman T.S. & Coetzer J.A. 1994. Photosensitivity in Soth Africa. VII. Chemical composition of biliary crystals from a sheep with experimentally induced geeldikkop. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. 61(3): 215-222.
- 17 Mustafa V.S., Moscardini A.R.C., Borges J.R., Reckziegel G.C., Riet-Correa F. & Castro M.B. 2012. Caracterização da intoxicação natural por *Brachiaria* spp. em ovinos no Brasil Central. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 32(12): 1272-1280.
- 18 Pessoa C.R.M., Medeiros R.M.T. & Riet-Correa F. 2013. Importância econômica, epidemiologia e controle das intoxicações por plantas no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 33(6): 752-758.
- 19 Porto M.R., Saturnino K.C., Lima E.M.M., Lee S.T., Lemos R.A.A., Pereira C.M., Riet-Correa F. & Castro M.B. 2013. Avaliação da exposição solar na intoxicação experimental por *Brachiaria decumbens* em ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 33(8): 1009-1015.
- 20 Riet-Correa B., Castro M.B., Lemos R.A.A., Riet-Correa G., Mustafa V. & Riet-Correa F. 2011. *Brachiaria* spp. poisoning of ruminants in Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 31(3): 183-192.
- 21 Riet-Correa B., Riet-Correa F., Oliveira Junior C.A., Duarte V.C. & Riet-Correa G. 2010. Alterações histológicas em fígados e linfonodos de búfalos (*Bubalus bubalis*) mantidos em pastagens de *Brachiaria* spp. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 30(9): 705-711.
- 22 Souza R.I.C., Riet-Correa F., Barbosa-Ferreira M., Brum K.B., Fernandes C.E. & Lemos R.A.A. 2010. Intoxicação por *Brachiaria* spp. em bovinos no Mato Grosso do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 30(12): 1036-1042.