

ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS EM MÚSCULOS E NERVOS DE AVES CAUSADAS POR MONENSINA E ROXARSONA

MICROSCOPIC CHANGES IN MUSCLES AND PERIPHERAL NERVES OF BROILER CHICKENS CAUSED BY MONENSIN AND ROXARSONE

B. C. MAZZUCATTO¹, A. C. PAULILLO², O. M. JUNQUEIRA³, A. C. ALESSI^{2*}

RESUMO

Rações comerciais para frangos de corte geralmente contêm coccidiostáticos na sua fórmula. Um deles, a Monensina, é amplamente utilizado, e quando administrado em doses tóxicas pode levar a lesões nas musculaturas cardíaca e esquelética. A Roxarsona muitas vezes é adicionada à Monensina para potencializá-la, causando lesões em nervos periféricos de aves submetidas ao estresse. Os objetivos desse estudo foram conhecer os efeitos tóxicos da associação das drogas Monensina e Roxarsona em frangos de corte e desenvolver um modelo experimental que permita o estudo das lesões macro e microscópicas das musculaturas esquelética e cardíaca e de nervos periféricos. Frangos de corte, pelo seu rápido crescimento e desenvolvimento, foram os animais de escolha. Para tanto, 360 frangos de corte foram divididos em seis grupos experimentais, com três repetições. Diferentes grupos foram tratados com doses crescentes de Monensina, associada ou não à Roxarsona, durante 35 dias. Após esse período as aves foram abatidas e foram colhidos fragmentos das musculaturas cardíaca e esquelética e também nervos periféricos para exame histopatológico. Músculos e nervos de animais tratados com ambas as drogas apresentaram lesões inflamatórias e degenerativas. A intoxicação por Monensina e Roxarsona mostrou ser eficaz como modelo experimental para lesões musculares e nervosas.

PALAVRAS-CHAVE: Ionóforos. Arsenicais. Frango de corte. Intoxicação Experimental

SUMMARY

Anticoccidial agents are commonly used in the poultry industry. One of them, Monensin, is widely used, and in toxic levels can induce lesions in cardiac and skeletal muscle. Roxarsona can be used in addition to Monensin, increasing its efficacy. Peripheral neuropathy has been shown in chickens that were fed roxarsona supplemented diets and subjected to stress. This paper shows the effects of Monensin in association with Roxarsona in broiler chicken to develop an experimental model that concerns gross and microscopic study of lesions in peripheral nerves and cardiac and skeletal muscle. Broiler chickens are selected due to fast growing and developing. 360 chickens distribute in six groups (three repetitions) were fed either with Monensin and/or Roxarsona for a period of thirty five days. The groups were Monensin 0ppm/Roxarsona 0ppm, Monensin 0ppm/Roxarsona 80ppm, Monensin 150ppm/Roxarsona 0ppm, Monensin 150ppm/Roxarsona 80ppm, Monensin 300ppm/Roxarsona 0ppm, Monensin 300ppm/Roxarsona 80ppm. Clinical signs were observed and recorded. After this period, birds were euthanatized and muscles and nerves were removed and submitted to microscopic examination. No gross lesions were observed. The histopathologic findings showed necrosis and myodegeneration in cardiac and skeletal muscle, and macrophages between the fibers. Microscopic lesions were observed in peripheral nerves and cardiac and skeletal muscles consisting in degeneration of and infiltration of inflammatory cells. The use of the association of these drugs in broilers showed to be adequate as a model for nerve and muscle lesions.

KEY-WORDS: Ionophore. Arsenical. Broiler Chicken. Experimental Intoxication

¹ Universidade Estadual de Maringá – CAU – Umuarama

² UNESP – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Jaboticabal – SP Departamento de Patologia Veterinária. Via Paulo Castelanne, s/n Jaboticabal – SP 14884-900 alessi@fcav.unesp.br

* Autor para correspondência

INTRODUÇÃO

Antibióticos têm sido amplamente utilizados nas rações comerciais de várias espécies de animais como promotores de crescimento e coccidiostáticos. Um dos mais utilizados é a Monensina, um ionóforo produzido durante a fermentação de uma cepa de *Streptomyces cinnamomensis* (HANRAHAN et al., 1981). Também a Roxarsona (Ácido-3-Nitro 4 Hidroxi Fenilarsônico) tem sido usada como potencializador de agentes coccidiostáticos para aves e suínos.

A Roxarsona estimula o crescimento e aumenta a eficiência alimentar nessas espécies. A dose recomendada é de 25 a 50 ppm (DONOHO, 1984).

Aves tratadas com Monensina sódica apresentaram sinais de toxicose, que incluem fraqueza extrema, anorexia, paralisia e morte. As lesões macroscópicas encontradas nas aves foram emagrecimento, congestão generalizada, aumento e palidez do miocárdio e hidropericárdio. Ao microscópio de luz, fibras musculares do miocárdio, músculo peitoral superficial, músculo latíssimo dorsal anterior e músculo sartório foram analisadas, e constatou-se vacuolização intermiofibrilar, sendo severa no miocárdio e em fibras musculares vermelhas e moderada nas fibras musculares intermediárias. Necrose de fibras musculares foram limitadas a fibras musculares vermelhas (HANRAHAN, 1981, NOVILLA, 1992).

Experimentos realizados com a Roxarsona na dose de 45,4 ppm mostraram ocorrência significativa de lesões em membros posteriores, sendo estas fibrose de tendões e suas bainhas e ruptura do tendão (LASTER et al., 1999)

As lesões histopatológicas associadas a intoxicações por Roxarsona são desmielinização e gliose dos nervos periféricos, principalmente dos nervos ópticos (CAFÉ & ANDRADE, 2000)

Gregory et al., 1995, em experimento utilizando a Roxarsona e o ionóforo Lasalocida, submetem as aves à privação de água durante 4 horas por dia e ao estresse térmico e observaram lesões microscópicas e ultra-estruturais em nervos periféricos, porém não foram observadas lesões macroscópicas na necropsia.

Além de aves, relatos de mamíferos com lesões por sensibilidade a essas drogas têm ocorrido na literatura. Confer et al., (1983) observaram lesões na musculatura esquelética e cardíaca de ovinos tratados com Monensina; Hazlett et al., (1992) relataram casos de nefrotoxicidade em cães intoxicados acidentalmente por Monensina e Roxarsona; Bezerra Jr. et al. (2000), observaram que a intoxicação por Monensina em equinos produziu uma doença caracterizada principalmente por sinais clínicos e lesões anatomopatológicas referentes à musculatura esquelética.

Rozza et al. (2007), observaram que búfalos são mais sensíveis que bovinos quando intoxicados experimentalmente com Monensina.

Este estudo visa o desenvolvimento de um modelo experimental que permita o estudo de lesões musculares e de nervos periféricos decorrentes da associação de Monensina e Roxarsona, facilitando seu entendimento e sua seqüência de eventos. Aves, em

particular os frangos de corte, tornam-se um modelo eficaz, devido ao seu rápido crescimento e à sua importância econômica.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados pintos de um dia de idade, machos, de linhagem comercial de frangos de corte. As aves foram distribuídas em seis grupos com 20 pintos cada, com três repetições. O Grupo 1 (G1) recebeu ração sem adição de quaisquer drogas (grupo controle); o Grupo 2 (G2) recebeu na ração 80 ppm de Roxarsona; o Grupo 3 (G3) recebeu na ração 150 ppm de Monensina; o Grupo 4 (G4) recebeu na ração 150 ppm de Monensina e 80 ppm de Roxarsona; o Grupo 5 (G5) recebeu na ração 300 ppm de Monensina e o Grupo 6 (G6) recebeu na ração 300 ppm de Monensina e 80 ppm de Roxarsona. A ração foi especialmente formulada, sem o acréscimo de qualquer outro antibiótico ou promotor de crescimento.

O tempo total do experimento foi de 35 dias, e ao final desse período as aves foram abatidas, sendo submetidas à necropsia e posterior colheita dos músculos cardíaco, peitoral superficial, latíssimo dorsal anterior e sartório. Os nervos ciáticos das aves (esquerdo e direito) e os nervos ópticos também foram colhidos para exame microscópico. O material colhido durante a necropsia foi armazenado em Formol a 10% tamponado com fosfatos, em pH 7,4 para fixação e posterior inclusão em parafina, de acordo com a técnica de rotina. Foram obtidos cortes histológicos com 5 µm de espessura e corados por Hematoxilina e Eosina (HE).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As alterações verificadas clinicamente e aos exames macro e microscópicos foram quantificadas numericamente e estão apresentadas na Tabela 1. Aves do grupo controle, ou seja, alimentadas com ração comercial sem adição de Monensina ou Roxarsona, não apresentaram alterações clínicas ou anatomopatológicas. Por outro lado, aves dos demais grupos, que ingeriram um dos compostos em estudo, ou a associação de ambos, tiveram algum tipo de lesão ou sinal clínico. Concentrações de Roxarsona de 80ppm, ou seja, não muito além da recomendada, já provocou alterações. Alguns animais do grupo tratado com Monensina e Roxarsona apresentaram dificuldade na locomoção e ausência de controle motor dos membros posteriores (Figura 1). Hanrahan, 1981, Novilla, 1992 observaram que aves tratadas apenas com Monensina sódica cristalina em altas doses apresentaram fraqueza extrema, anorexia, paralisia e morte, tendo emagrecimento e lesões macroscópicas que foram desde congestão generalizada até aumento e palidez do miocárdio e hidropericárdio. Neste experimento não foram evidenciadas alterações macroscópicas em nervos ou em músculos. Já experimentos com aves tratadas apenas com a Roxarsona em altas doses mostraram lesões nos membros posteriores, associadas a alterações nas bainhas de tecido conjuntivo dos tendões (LASTER et al., 1999). Gregory et al., 1995

utilizando Roxarsona associada a outro ionóforo (Lasalocida) constataram que as aves não apresentaram lesões macroscópicas na necropsia tanto nos animais dos grupos controle quanto nos grupos tratados apenas

com Roxarsona. Os autores sugeriram que se os animais recebessem a dose recomendada de Lasalocida e não fossem submetidos ao estresse, não seriam encontradas lesões.

Tabela 1 - Alterações verificadas em frangos de cortes tratados ou não com Monensina e/ou Roxarsona. Jaboticabal, 2006.

Grupos		G1*	G2	G3	G4	G5	G6
Alterações							
Dificuldade de locomoção	+++	-	1,7***	-	-	-	-
	++	-	-	-	-	-	-
	+	-	-	-	-	-	5
Degeneração de nervos	+	-	10	6,7	5	5	6,7
	++	-	-	1,7	-	1,7	-
	+++	-	-	-	-	-	-
Infiltrado inflamatório em nervos	+	-	75	10	38,3	21,7	3,3
	++	-	5	5	-	3,3	-
	+++	-	-	1,7	-	-	-
Degeneração fibras musculares cardíacas	+	-	3,3	5	-	-	-
	++	-	-	-	-	-	-
	+++	-	-	-	-	-	-
Degeneração fibras musculares esqueléticas	+	-	1,7	10	6,7	16,7	13,3
	++	-	16,7	20	25	10	21,7
	+++	-	25	3,3	6,7	3,3	8,3
Infiltrado inflamatório entre fibras musculares cardíacas	+	-	11,7	10	25	15	13,3
	++	-	11,7	8,3	3,3	-	6,7
	+++	-	5	-	-	5	8,3
Infiltrado inflamatório entre fibras musculares esqueléticas	+	-	13,3	25	18,3	10	8,3
	++	-	6,7	6,7	3,3	1,7	1,7
	+++	-	-	3,3	5	13,3	1,7

*G1 - ração sem drogas; G2 - 80 ppm de Roxarsona; G3 - 150 ppm de Monensina; G4 - 150 ppm de Monensina e 80 ppm de Roxarsona; G5 - 300 ppm de Monensina e G6 - 300 ppm de Monensina e 80 ppm de Roxarsona. **+ leve; ++ moderado; +++ intenso; ***Valores expressos em porcentagem de aves afetadas (n = 60 animais/grupo).



Figura 1 - Ave tratada com Monensina e Roxarsona (G6) apresentando dificuldade em se manter em pé e de se locomover.

Quanto às lesões microscópicas, (CAFÉ & ANDRADE, 2000) relataram que as lesões histopatológicas associadas a intoxicações por Roxarsona são desmielinização e gliose dos nervos periféricos, principalmente dos nervos ópticos. Neste trabalho não foram observadas lesões degenerativas nos nervos, mas sim infiltrados inflamatórios entre as fibras nervosas e abaixo do epineuro (Figura 2). O grupo com lesões mais acentuadas no nervo óptico foi o grupo tratado com associação das drogas, indicando o possível envolvimento da Monensina nas lesões.

O músculo sartório parece ser o mais acometido por lesões no presente trabalho. Neste músculo foram

observados infiltrados de células inflamatórias entre as fibras (Figura 3) e no perímio, fibras em processo de degeneração (Figuras 4) e atrofia de algumas fibras musculares. As bainhas de tecido conjuntivo entre as fibras e feixes apresentaram-se espessadas (Figura 3).

No músculo latíssimo dorsal anterior também foram observados infiltrados de células inflamatórias entre as fibras, sendo estas células polimorfonucleares (PMN), com predomínio de eosinófilos.

No músculo cardíaco foram observadas lesões degenerativas na parede de vasos sanguíneos e na região perivascular, além de infiltrado inflamatório mono e polimorfonuclear, com predomínio de eosinófilos.

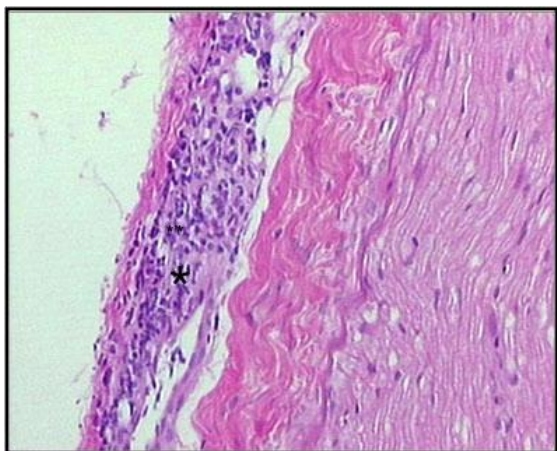


Figura 2 - Fotomicrografia de nervo ciático de ave tratada com Monensina e Roxarsona (G6). Presença de infiltrado inflamatório polimorfonuclear abaixo do epineuro (*). HE, obj. 20x.

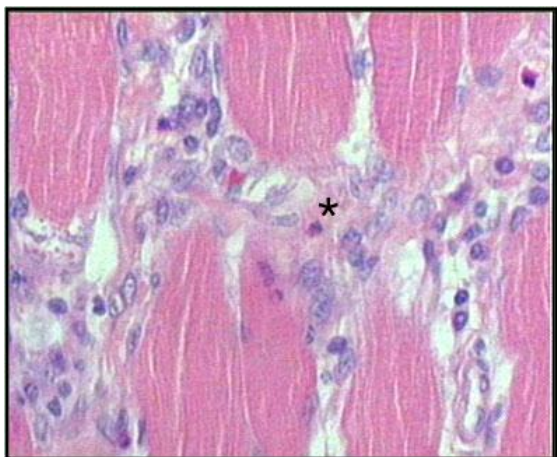


Figura 3 - Fotomicrografia de músculo sartório de ave tratada com Monensina e Roxarsona (G6). Bainhas de tecido conjuntivo que revestem os feixes musculares espessada e com infiltrado inflamatório mononuclear (*). HE, obj. 40x.

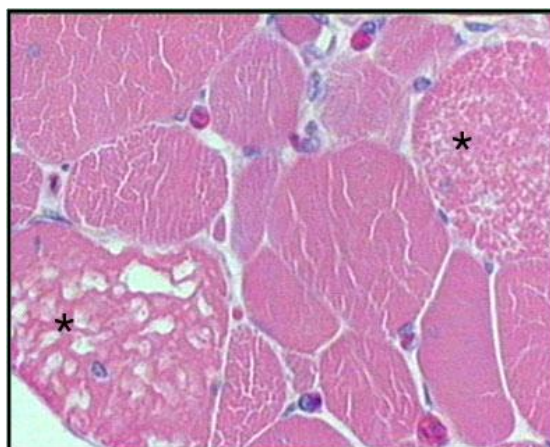


Figura 4 - Fotomicrografia de músculo sartório de ave tratada com Monensina e Roxarsona (G6). Feixes musculares em processo de degeneração (*) entre feixes musculares normais. HE, obj. 40x.

CONCLUSÕES

Os animais do grupo controle não apresentaram alterações macroscópicas ou histopatológicas. Os achados histopatológicos observados em frangos de corte submetidos ao tratamento com doses elevadas de Monensina e Roxarsona, isoladas ou associadas, foram lesões inflamatórias e degenerativas na musculatura esquelética e cardíaca e também em nervos periféricos. O modelo de intoxicação por Monensina e Roxarsona mostrou-se promissor como modelo experimental para lesões musculares e nervosas.

AGRADECIMENTOS

Às técnicas do laboratório de histopatologia, Francisca de Assis Ardison e Maria Inês Yamazaki de Campos e aos técnicos de necropsia Edgard Homem e Narciso Batista Tel.

REFERÊNCIAS

- BEZERRA Jr., P. S., ILHA, M. R. S., LANGOHR, I. M., BARROS, C. S. L. **Intoxicação experimental por Monensina em eqüinos**. *Pesq. Vet. Bras.* 20(3): 102-108, 2000.
- CAFÉ, M. B., ANDRADE, M. A. **Enfermidades tóxicas**. In: BERCHIERI JR., A., MACARI, M. **Doenças das Aves**. Campinas: FACTA, 2000. p. 467-481.
- DONOHO, A. L. **Biochemical studies on the fate of monensin in animals and in the environment**. *Journal of Animal Science*. 58(6): 1528-1539, 1984.
- GREGORY, D. G., VANHOOSER, S. L., STAIR, E. L. **Light and electron microscopic lesions in peripheral nerves of broiler chickens due to**

roxarsone and lasalocid toxicoses. Avian Disease 39:408-416, 1995.

HANRAHAN, L. A., CORRIER, D. E., NAQI, S. A. **Monensin toxicosis in broiler chickens.** Veterinary Pathology 18: 665-671, 1981.

LASTER, C. P., HOERR, F. J., BILGILI, S. F., KINCAID, S. A. **Effects of dietary roxarsone supplementation, lighting program, and season on**

the incidence of leg abnormalities in broiler chickens. Poultry Science 78: 197-203, 1999.

NOVILLA, M. N. **The veterinary importance of the toxic syndrome induced by ionophores.** Veterinary and Human Toxicology. 34(1): 66-70, 1992.

ROZZA, D. B., CORRÊA, A. M. R., LEAL, J. S., BANDARRA, P. M., GUAGNINI, F. S., RAYMUNDO, D. L., DRIEMEIER, D. Intoxicação experimental por Monensina em búfalos e bovinos. Pesq. Vet. Bras. 27 (4), 2007.