



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL NOS  
TRÓPICOS**

**MESTRADO**

**INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR RESÍDUO DE MANDIOCA  
(*Manihot esculenta* Crantz) (MANIPUEIRA) EM OVINOS**

**VALDIR CARNEIRO SILVA**

Médico Veterinário

**SALVADOR – BA  
MAIO - 2016**

**VALDIR CARNEIRO SILVA**

**INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR RESÍDUO DE  
MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz) (MANIPUEIRA) EM  
OVINOS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal nos Trópicos, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal nos Trópicos.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Miguel Ocampos Pedroso

**SALVADOR - BA  
MAIO 2016**

## FICHA CATALOGRÁFICA

S586i

Silva, Valdir Carneiro.

Intoxicação experimental por residuo de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) (manipueira) em ovinos / Valdir Carneiro Silva. - Salvador, BA, 2016.

75 f.; il.

Orientador: Pedro Miguel Ocampos Pedroso.

Dissertação (Mestrado) - Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, 2016.

1.Ovino - Toxicologia veterinária. 2.Ovino - Toxicologia experimental. 3.Água residuária - Manipueira. I.Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária. II.Título.

CDD: 636.08959

**VALDIR CARNEIRO SILVA**

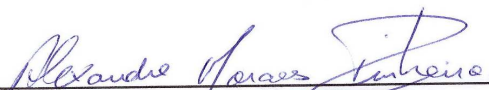
**INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR RESÍDUO DE MANDIOCA**  
*(Manihot esculenta Crantz)* **(MANIPUEIRA) EM OVINOS**

Dissertação defendida e aprovada pela Comissão Examinadora em 25 de maio de 2016

Dissertação defendida e aprovada para obtenção do grau de  
Mestre em Ciência Animal nos Trópicos

Salvador, 25 de maio de 2016

Comissão examinadora:



**Dr. Alexandre Moraes Pinheiro**  
UFRB



**Dr. Joselito Nunes Costa**  
UFRB



**Dr. Fernando Pesson Casagrande**  
MEVZ/UFBA



**Dr. Pedro Miguel Ocampos Pedroso**  
UnB  
Orientador

“Um pouco de ciência  
nos afasta de Deus e  
muito nos aproxima”  
(Pasteur)

Este trabalho é dedicado aos mestres e  
amigos de toda família do Setor de  
Patologia Veterinária da UFRB.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus e coloco tudo que eu sou e tenho em suas mãos. Minha gratidão ao Prof. Dr. Pedro Miguel Ocampos Pedroso pela amizade, dedicação e principalmente pela confiança e oportunidade de trabalhar sob sua orientação, compartilhando comigo suas experiências, repartindo seus conhecimentos, contribuindo desta forma para que eu buscasse as ferramentas com as quais poderei abrir novos horizontes. À toda equipe de estagiários, técnicos e servidores do Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. À Marilúcia pela paciência e amizade e à minha segunda irmã em Cruz das Almas, Suélen, obrigado pelos conselhos e ajuda nas correções.

### **À família:**

Aos meus queridos pais: Edgar, homem honesto, lavrador da roça e do qual tenho muito orgulho; à minha mãe Dilva, dona de casa amorosa. De vocês recebi o dom mais precioso do universo: a vida. Por isso já sou eternamente grato. Minhas irmãs Edilma, Kelley e Silvia, vocês são mais do que simples ajudantes, este trabalho também é de vocês, e à Camila minha noiva que sempre esteve do meu lado nas horas tristes e alegres em altas horas da noite, em que me encontrava escrevendo e você me mandando descansar; você já faz parte dessa estrada, para sempre. Foi por isso tudo e por vocês que foi possível eu chegar até aqui.

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> Degradação da Linamarina.....	23
<b>Figura 2.</b> (A) Exemplos de <i>Manihot esculenta</i> . (B) Tubérculos de <i>M. esculenta</i> . (C) Massa de mandioca armazenada em sacos de linha, sobre os quadros de prensa e posterior prensagem desta massa ralada. (D) Manipueira, líquido rico em ácido cianídrico (HCN), resultante da massa ralada das raízes de <i>M. esculenta</i> Crantz, variedade “brava” utilizada no experimento armazenada em recipiente de plástico aberto.....	27
<b>Figura 3.</b> Avaliação quantitativa pelo método de reação com cloramina T e isonicotinato 1,3 dimetilbarbiturato com determinação espectrofométrica a 605nm da perda de toxidez em amostras de manipueira a cada 24h.....	30
<b>Figura 4.</b> Teste do papel picrossódico utilizando manipueira recém-coletada na casa de farinha. Observe o frasco direito com papel cor vermelha apresentando reação positiva para presença de ácido cianídrico (HCN) após 5 minutos de exposição. Na esquerda frasco controle.....	31
<b>Figura 5.</b> Ovino 1 no dia 1 apresentando sialorreia intensa , narinas dilatadas e midríase quinze minutos após receber a dose de 0,99mg de ácido cianídrico (HCN) /Kg peso vivo.....	33
<b>Figura 6.</b> Ovino 1 no dia 1 apresentando marcada dificuldade respiratória, com abertura do quadrilátero de sustentação, dezesseis minutos após receber a dose de 0,99mgHCN/Kg de peso vivo.....	33

## LISTA DE TABELAS

	<b>Página</b>
<b>Tabela 1.</b> Composição química da manipueira.....	17
<b>Tabela 2.</b> Reações do papel picrossódico utilizando manipueira.....	31
<b>Tabela 3.</b> Relação das doses em mg/kg de peso vivo de ácido cianídrico HCN em cada animal nos dois dias de experimento.....	34
<b>Tabela 4.</b> Experimento em ovinos com resíduo de <i>Manihot esculenta</i> (manipueira) durante dois dias, com diferentes concentrações de ácido cianídrico (HCN) por mL .....	35
<b>Tabela 5.</b> Alteração dos parâmetros fisiológicos de ovinos intoxicados por manipueira antes e depois da administração no primeiro dia de experimento.....	36
<b>Tabela 6.</b> Alteração dos parâmetros fisiológicos de ovinos intoxicados por manipueira antes e depois da administração no segundo dia de experimento.....	36



**LISTA DE ABREVEATURAS**

**HCN – ácido cianídrico**

**IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia Estatística**

**MetHb - methemoglobina**

**PV- peso vivo**

**SUMÁRIO**

**Intoxicação por resíduo de mandioca (*Maninot esculenta* Crantz ) (manipueira) em ovino.**

	<b>Página</b>
<b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>13</b>
<b>OBJETIVO.....</b>	<b>15</b>
<b>JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>16</b>
<b>1.0MANDIOCULTURA.....</b>	<b>15</b>
<b>2.0TOXICIDADE DA MANDIOCA.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1 INTOXICAÇÃO POR PLANTAS CIANOGENICAS.....</b>	<b>18</b>
<b>2.2 MECANISMO DE AÇÃO DO HCN.....</b>	<b>20</b>
<b>2.3 SINAIS CLÍNICOS.....</b>	<b>21</b>
<b>2.4 LINAMARINA E LOTAUSTRALINA.....</b>	<b>23</b>
<b>2.5 DOSES TÓXICAS DE CIANETO.....</b>	<b>24</b>
<b>2.6 TRATAMENTO.....</b>	<b>25</b>
<b>3.0 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>26</b>
<b>3.1 IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA.....</b>	<b>26</b>
<b>3.2 PREPARAÇÃO DA AMOSTRA.....</b>	<b>26</b>
<b>3.3 QUANTIFICAÇÃO DO CIANETO.....</b>	<b>28</b>
<b>3.4 TESTE DO PAPEL PICROSÓDICO.....</b>	<b>29</b>
<b>3.5 EXPERIMENTO COM OVINOS.....</b>	<b>29</b>
<b>4.0 RESULTADOS.....</b>	<b>30</b>
<b>4.1 TESTE DO PAPEL PICROSÓDICO.....</b>	<b>31</b>
<b>4.2 EXPERIMENTO COM OVINOS .....</b>	<b>32</b>
<b>5.0 DISCUSSÃO E CONCLUSÕES.....</b>	<b>37</b>
<b>AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>41</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>42</b>

## **Intoxicação por resíduo de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) (manipueira) em ovino**

### **RESUMO**

O ácido cianídrico é considerado uma das substâncias mais tóxicas que se conhece. Dentre as plantas tóxicas cianogênicas destaca-se a mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). Na industrialização da mandioca para a produção de farinha e extração de fécula são gerados coprodutos sólidos e líquidos. O resíduo líquido que escorre das raízes da mandioca previamente ralada é comumente chamado de “manipueira”. O objetivo do presente trabalho foi determinar a dose tóxica e caracterizar os principais aspectos clínicos da intoxicação por manipueira em ovinos. Seis ovinos receberam diferentes doses de manipueira. No primeiro dia a manipueira continha 0,007 mg/mL de ácido cianídrico (HCN) e os animais receberam respectivamente doses de 0,99 mg/kg, 0,75 mg/kg, 0,70 mg/kg, 0,63 mg/kg e 0,5 mg/kg e o controle 0,0 mg/kg de HCN. Após 24 horas de descanso da mesma manipueira usada no primeiro dia colocada em bacia plástica aberta à sombra, as mensurações foram de 0,003 mg/mL de HCN e as concentrações administradas para cada animal foram 0,46 mg/kg, 0,34 mg/kg, 0,31 mg/kg, 0,28 mg/kg, 0,23 mg/kg e o controle 0,0 mg/kg de HCN. Foi realizada avaliação quantitativa de cianeto em teste do papel picrossódico nos períodos 0, 24 e 48 horas após obtenção da amostra e descanso da mesma em recipiente de plástico na sombra. Os ovinos que receberam doses de 0,99 mg/kg, 0,75 mg/Kg e 0,70 mg/kg de HCN respectivamente, desenvolveram sinais clínicos de taquicardia, taquipneia, midríase, sialorreia, narinas dilatadas, incoordenação motora, tremores musculares, atonia ruminal e timpanismo. Os ovinos que receberam, 0,63 mg/kg e 0,50 mg/kg, apresentaram taquicardia, taquipneia, discreta salivação, tremores musculares e dilatação das narinas. A análise quantitativa dos teores de cianeto total da manipueira atingiu metade da concentração de HCN após 24 horas de descanso, de 0,007 mg/mL para 0,003 mg/mL e após 48 horas foi de 0,001 mg/mL. No segundo dia de experimento somente dois ovinos com doses de 0,43 mg/kg e 0,34 mg/kg apresentaram sinais clínicos de taquicardia e taquipneia e tremores musculares. No teste do papel picrossódico, observou-se reação positiva acentuada para presença de HCN 5 minutos após exposição na hora 0, reação positiva moderada depois de 11 minutos na hora 24 e sem reação às 48 horas. Manipueira subproduto de *M. esculenta* causa intoxicação em ovino com dose a partir de 0,34 mg/kg de HCN por peso vivo, 10 minutos após a administração.

**Palavras chave:** Ácido cianídrico, Mandioca, Nordeste, Ruminante

**Experimental poisoning by cassava the by-product of *Manihot esculenta* Crantz (manipueira) in sheep**

## ABSTRACT

The cyanide acid is considered one of the most known toxic substances. Among the cyanogenic toxic plants cassava stands out (*Manihot esculenta* Crantz). In the industrialization of cassava for the production of flour and starch extraction are generated solid and liquid coproducts. The liquid waste that runs off the previously shredded cassava root is commonly called "manipueira". The objective of this study was to determine the toxic dose and characterize the main clinical aspects of poisoning by manipueira in sheep. Six sheep received different doses of manipueira. On the first day manipueira contained 0.007 mg / ml of HCN and the animals received respectively the doses of 0.99 mg / kg, 0.75 mg / kg, 0.70 mg / kg, 0.63 mg / kg and 0.5 mg / kg and the control received 0.0 mg / kg HCN. After 24 hours of rest the same manipueira used on the first day and placed in plastic bowl opened in the shade in the measurements of 0.003 mg / ml and the concentrations of HCN for each animal were administered 0.46 mg / kg, 0.34 mg / kg , 0.31 mg / kg, 0.28 mg / kg, 0.23 mg / kg and control 0.0 mg / kg HCN. The quantitative cyanide evaluation was performed in picrosodic paper test during the periods 0, 24 and 48 hours after obtaining the sample and rest in the same plastic container in the shade. Sheep that have received doses of 0.99 mg / kg, 0.75 mg / kg and 0.70 mg / kg HCN respectively developed clinical signs of tachycardia, tachypnea, mydriasis, hypersalivation and flared nostrils, motor incoordination, muscle tremors, ruminal atony and bloat. In the test picrosodic paper was observed accentuated positive reaction for the presence of HCN 5 minutes after exposure at time 0, moderate positive reaction after 11 minutes at the time 24 and no reaction to 48 hours. Manipueira the byproduct of *M. esculenta* cause poisoning in sheep with doses from 0.34 mg / kg HCN by live weight, 10 minutes after administration.

**Keywords:** Cyanide acid, Cassava, Northeast, Ruminant

## INTRODUÇÃO GERAL

O grau de toxicidade da mandioca tem sido objeto de muitas discussões por ser um fator que limita sua utilização na alimentação humana e animal, destacando-a entre as plantas cinogênicas mais tóxicas (PENTEADO e FLORES, 2001; CEREDA, 2001). São consideradas plantas cianogênicas aquelas que contêm glicosídeos cianogênicos, que ao serem hidrolisados liberam cianeto, o ácido cianídrico (HCN). Este é considerado como uma das substâncias mais tóxicas que se tem conhecimento (TOKARNIA *et al.*, 2012).

Na industrialização da mandioca para a produção de farinha e extração de fécula são gerados resíduos sólidos e líquidos. O resíduo líquido que apresenta aspecto leitoso e coloração amarelo claro que escorre das raízes da mandioca previamente raladas é comumente chamado de “manipueira” ou “água de mandioca” e normalmente é produzido na proporção de 3,68m<sup>3</sup> por tonelada de raiz processada (MAGALHÃES, 1998; CEREDA, 2001).

Segundo Ponte (2006) a manipueira pode funcionar como inseticida, nematocida, acaricida, fungicida, bactericida, herbicida e como adubo. Sua toxicidade se deve à presença do HCN. Os glicosídeos acumulados na mandioca são a linamarina, que representa 95% do conteúdo total de compostos cianogênicos e a lotaustralina, que representa 5% deste total (MONTAGNAC *et al.*, 2009). Durante o processamento da mandioca para fabricação de farinha, ocorre hidrólise enzimática da linamarina, que promove a liberação de HCN (BOURDOUX *et al.*, 1982; CAGNON *et al.*, 2002). Considerável parte do cianeto gerado no processo solubiliza-se na manipueira ou volatiliza-se (IKEDIOBI *et al.*, 1993).

A manipueira tem sido utilizada na produção animal como um bom substrato protéico, sendo a mesma colocada em repouso em tonéis abertos e à sombra durante 15 dias. É bem aceita pelos animais e apresenta boa palatabilidade Almeida *et al.* (2009) e só causa intoxicação quando os animais consomem o resíduo de forma acidental, antes de três dias de repouso (RIET-CORREA *et al.*, 2011).

Segundo Cereda (1994) a preocupação com o resíduo manipueira com relação ao HCN é bastante significativa, também na poluição ambiental, já que a produção da farinha de mandioca gera entre 267 e 419 litros desse resíduo para cada tonelada de raiz processada, resíduo este que acaba infiltrando no solo e contaminando lençóis freáticos

e aquíferos. Em trabalho de Fioretto (2001), uma tonelada de raízes de mandioca processada por dia, por uma fábrica de fécula, equivale à poluição causada por 200 -300 habitantes dia, já a mesma quantidade de raízes processadas em casas de farinha pequenas corresponde a um equivalente populacional de 150 - 250 habitantes dia.

A investigação referente à intoxicação por “manipueira” surgiu a partir de um levantamento das principais plantas tóxicas que acometiam animais de produção na região do Recôncavo da Bahia, Nordeste do Brasil, entre setembro de 2011 e setembro de 2013 (PINHEIRO *et al.*, 2013). Nesse levantamento a principal intoxicação mencionada pelos produtores foi pelo resíduo de *M. esculenta* Crantz, sendo 34 no total de 67 relatos de intoxicação por plantas, que foi observada em bovinos, suínos, asininos, ovinos e galinhas.

A manipueira normalmente fica armazenada em locais desprotegidos próximos às casas de farinha, e a maioria dos casos de intoxicação ocorreu de forma acidental, devido ao descarte incorreto da manipueira em canaletas que conectavam o interior da casa de farinha ao lado externo, sem um local correto para descarte, ficando desprotegida e sem isolamento da área, permitindo que os animais tivessem acesso a este material e pudessem se intoxicar. A partir desses dados o objetivo do presente trabalho foi de determinar a dose tóxica e caracterizar os principais aspectos clínicos da intoxicação por manipueira em ovinos.

## OBJETIVOS

- Determinar o quadro clínico da intoxicação em ovinos por manipueira, resíduo de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz);
- Estimar a dose tóxica para a espécie ovina;
- Quantificar os níveis de ácido cianídrico da variedade de *Manihot esculenta* Crantz utilizada.
- Verificar a eficácia do tratamento com Tiossulfato de sódio a 20% na dosagem de 0,5 mL/kg de peso vivo na intoxicação por HCN em ovinos.

## JUSTIFICATIVA

A investigação referente à intoxicação por “manipueira” surgiu a partir de resultados obtidos de um levantamento das principais plantas tóxicas para animais de produção na região do Recôncavo da Bahia, Nordeste do Brasil. Do estudo realizado, foram entrevistadas 120 pessoas, sendo relatados 67 casos de intoxicações por plantas. Destes, 34 (50,74%) dos entrevistados mencionaram a intoxicação por resíduo de *Manihot esculenta* Crantz, conhecido como “manipueira”. O levantamento foi realizado na zona rural de 28 municípios dos 33 que compõem a região do Recôncavo da Bahia. As visitas foram realizadas no período de setembro de 2011 a setembro de 2013. Dados referentes à epidemiologia e sinais clínicos foram adquiridos por produtores rurais e técnicos da área. Adicionalmente, nas casas de farinha da região foram coletadas informações referentes ao processamento da farinha e do subproduto produzido.

### 1.0 MANDIOCULTURA



O Brasil é o segundo maior produtor de mandioca, responsável por 12% da produção mundial. Em 2010 a área plantada no país ultrapassou 1,7 milhões de hectares, com produção aproximada de 24,83 milhões de toneladas e rendimento médio de 13,9 toneladas por hectare, sendo os principais estados produtores: Pará, Paraná, Bahia, Rio Grande do Sul e Maranhão Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) 2011. Tradicionalmente, a produção de mandioca da região Nordeste é orientada para a produção de farinha, a qual é realizada em indústrias de processamento denominadas “casas de farinha” (CARDOSO e SOUZA, 1999).

O estado da Bahia é considerado o terceiro maior produtor nacional de mandioca. A produção foi de 3,4 milhões de toneladas de raízes em 2011, apresentando produtividade média anual de 12,7 toneladas por hectare (IBGE, 2011).

## 2.0 TOXICIDADE DA MANDIOCA

O grau de toxicidade da mandioca tem sido objeto de muitas discussões por ser um fator que limita seu uso pelo homem e pelos animais. Isso ocorre devido à ação dos glicosídeos cianogênicos, sendo que a ingestão inadequada dos produtos e subprodutos ou mesmo inalação de HCN são perigosos à saúde, podendo levar a morte (CARVALHO, 1987; TELES 1987; PENTEADO e FLORES, 2001). A Tabela 1 ilustra a composição química média da manípueira.

**Tabela. 1** Composição química da manípueira.

Componente	Quantidade (ppm)
Nitrogênio	425,5
Fósforo	259,5
Potássio	1853,5
Cálcio	227,5
Magnésio	405,0
Enxofre	195
Ferro	15,3
Zinco	4,2
Cobre	11,5
Manganês	3,7
Boro	5,0
Cianeto livre	42,5
Cianeto total	604,0 <sup>(*)</sup>

(\*) 55 mgL<sup>-1</sup>, em média.

Adaptado de Ponte, (2006).

Os subprodutos da mandioca são as partes constituintes da própria planta, gerados em função do processo tecnológico adotado. São considerados resíduos a casca, farelo e manipueira, este último o resíduo líquido de maior impacto ambiental. (CEREDA, 2001).

A manipueira tem alta capacidade poluente devido à presença de carboidratos, açúcares solúveis, matérias graxas e mucopolissacarídeos, além do ácido cianídrico altamente tóxico, proveniente da hidrólise dos glicosídeos cianogênicos presentes na mandioca (POTENCIANO, 2012).

Na maioria dos processamentos da mandioca, a manipueira gerada tem como destino final os córregos e ribeirões ocasionando sérios prejuízos, principalmente para os criadores de gado, causando a morte do mesmo (CEREDA, 2001). Consta-se que essa manipueira quando descansada por 24 horas à sombra os teores de HCN caem pela metade, diminuindo assim riscos de intoxicação pelos animais. (TOKARNIA *et al.*, 2012).

O ácido cianídrico formado a partir da clivagem dos glicosídeos cianogênicos tem sido constatado em plantas de muitas famílias: Rosaceae, Leguminosae, Gramíneae, Araceae, Passifloraceae e Euforbiceae. Compostos cianogênicos também são encontrados em cogumelos, e bactérias (CEREDA e FIORETTO, 1981; VETTER, 2000; RADOSTITS *et al.*, 2000; TOKARNIA *et al.*, 2012).

Barana (2000) avaliou diferentes tipos de mandioca que produzem a manipueira e constatou variação na quantidade de cianeto presente no líquido (79,2 mg/L a 141,4 mg/L). Fernandes (1995), obteve uma concentração de 90 mg/L<sup>-1</sup> e Barana e Cereda, (2000) observou um teor de cianeto de aproximadamente 364 mg/L<sup>-1</sup>, o que demonstra sua alta toxicidade e a importância de mais estudos relacionados a manipueira.

## 2.1 INTOXICAÇÃO POR PLANTAS CIANOGENICAS

Dentre as plantas tóxicas descritas no Brasil, as cianogênicas se destacam devido à rápida mortalidade dos animais intoxicados. São descritas até o momento 11 espécies de interesse pecuário (*Manihot glaziovii*, *Manihot piauhyensis*, *Cnidoscolus phyllacanthus*, *Sorghum halepense*, *Sorghum sudanense*, *Holocalyx glaziovii*,

*Piptadenia macrocarpa*, *Piptadenia viridiflora*, *Prunus sellowii*, *Prunus sphaerocarpa*, *Passiflora foetida*) (TOKARNIA *et al.*, 2012).

A intoxicação ocorre quando os animais consomem a planta geralmente nos períodos de seca ou nos locais onde a planta é abundante. Santos (2009) sugere que após ingestão da manipueira por animais, descartada livremente em locais inadequados como córregos ou ribeirões, há possibilidade dos mesmos apresentarem sinais de intoxicação por HCN.

Experimentos realizados por Canella *et al.*, (1968) com *Manihot glaziovii* em bovinos conseguiram reproduzir a intoxicação com doses a partir de 2,5g/kg/peso vivo de folhas de mandioca. Por outro lado Tokarnia *et al.*, (1999) e Amorim *et al.*, (2004) só conseguiram reproduzir a intoxicação em bovinos com folhas de *M. glaziovii*, a partir de 5g/kg/peso/vivo. Amorim *et al.*, (2003) desenvolveram a intoxicação cianídrica em caprinos com folhas de *M. glaziovii* a partir de 6,7 g/kg/peso vivo.

A *P. macrocarpa* coletada no município de Patos causou intoxicação por HCN na dose de 10g/ kg/peso vivo, utilizando folhas murchas (MEDEIROS *et al.*, 2005). *Piptadenia viridiflora* (Kunth.) Benth. da família Leguminosae-Mimosoideae, conhecida popularmente como espinheiro e surucucu tem sido responsabilizada por surtos de intoxicação por HCN na Bahia. Tokarnia *et al.*, (1999) reproduziram a intoxicação com as folhas frescas e murchas de *P. viridiflora* com doses a partir de 5 e 4,43g/kg/peso vivo respectivamente.

*Prunus sellowii* Sw, pertencente à família Rosaceae, conhecida popularmente como “pessegueiro-bravo” também é uma planta cianogênica encontrada na região Sudeste e Sul do Brasil, sendo sua intoxicação natural diagnosticada em caprinos e bovinos no estado de São Paulo (SAAD e CAMARGO, 1967; GAVA *et al.*, 1992).

## 2.2 MECANISMO DE AÇÃO DO HCN

Os glicosídeos são metabólitos secundários das plantas, fitotoxinas com função de defesa contra herbívoros (VETTER, 2000; RADOSTITS *et al.*, 2002). São substâncias estáveis e inócuas, que só se tornam perigosas ao sofrerem desdobramento (hidrólise) na presença de enzimas específicas (TOKARNIA *et al.*, 2012).

A linamarina e lotaustralina são glicosídeos cianogênicos encontrados na mandioca, mais precisamente, no vacúolo celular. Quando ocorre a lise dos tecidos os vacúolos celulares são rompidos, liberando os glicosídeos que entram em contato com a enzima linamarase que cliva a linamarina e lotaustralina formando o HCN livre (TOKARNIA *et al.*, 2012).

O cianeto bloqueia a cadeia respiratória inibindo a enzima citocromo-oxidase, interrompendo a produção de ATP nas mitocôndrias, impedindo a respiração celular (BALLANTYNE, 1987; CÂMARA *et al.*, 2014), pois o ferro trivalente ( $\text{Fe}^{3+}$ ) oriundo dessa enzima se liga rapidamente ao íon férrico da citocromo-oxidase, impedindo que retorne ao estado ferroso. Esse mecanismo bloqueia toda a cadeia respiratória, acarretando a morte por hipóxia (VETTER, 2000).

Os sintomas iniciam-se poucas horas após a ingestão e inclui náusea, vômito, dispneia, ocasionalmente levando à morte (LOPES, 2001). Nas entrevistas realizadas a campo, foi obtida a informação pelos produtores que é comum pessoas que trabalham nas casas de farinha da região sentirem fortes dores de cabeça durante o manuseio da massa triturada.

Embora na maioria das vezes os animais sejam encontrados mortos, pela rapidez com que ocorre a intoxicação com o cianeto, em alguns casos há possibilidade de realizar tratamento específico, com recuperação imediata. O tratamento é feito com uma solução aquosa de tiosulfato de sódio a 20% na dosagem de 50 mL por 100 kg de peso vivo por via endovenosa, o mesmo funciona como antídoto, e sua meia vida é de 39 minutos, (BURROWS, 1981; KENT, 2014).

O mecanismo de ação por HCN pode sofrer variações devido aos valores de pH, do meio, pois se estiverem desajustados a reação de detoxificação será mais lenta. Se os valores do pH estiverem abaixo de 3,5 o processo é bloqueado. (CEREDA, 2003; TOKARNIA *et al.*, 2012).

Esse processo pode ser observado no estômago dos monogástricos, que tem o pH ácido, sendo inadequado para hidrólise de compostos cianogênicos, o que permite que o HCN liberado seja convertido em tiocianato e eliminado pela urina. Porém quando a quantidade de HCN no organismo se excede esse mecanismo fisiológico não consegue impedir a intoxicação. Já nos ruminantes isto não acontece devido ao pH básico no estômago destes animais (MENDEZ e SCHILD, 1993; CEREDA, 2003; TOKARNIA *et al.*, 2012).

Segundo Nambisan (1994) a atividade da enzima linamarase é aumentada em pH entre 5,5-6,0. Essa enzima possui natureza e atividade significativas em tecidos vegetais de plantas cianogênicas, pois influenciam o grau de hidrólise dos glicosídeos cianogênicos durante o processamento, como por exemplo da mandioca, influenciando nos níveis finais de glicosídeos. Assim sendo, pode-se observar que valores de pH ácidos ou próximos de uma faixa ácida contribuem para a cianogênese da linamarina.

### 2.3 SINAIS CLÍNICOS

As manifestações da intoxicação aguda por HCN são, na maior parte, inespecíficas (VOGEL *et al.*, 1981). Os animais apresentam início dos sinais clínicos em 10 - 15 minutos após a ingestão do material tóxico e a morte sobrevém de poucos minutos à uma hora após o início dos sinais (RADOSTITS *et al.*, 2002; YOUSSEF e MAXIE, 2004). A incapacidade de deglutição é quase sempre um dos primeiros sinais da intoxicação cianídrica (TOKARNIA *et al.*, 1999). A angústia respiratória é manifestada por dispneia, polipneia e cianose. Excitação, tremores musculares, gemidos, timpanismo, sialorreia, andar cambaleante, decúbito lateral, opistótono e nistagmo são comumente relatados (AMORIM *et al.*, 2005; TOKARNIA *et al.*, 2012).

Relato de um surto de intoxicação em 20 bovinos por uma planta cianogênica (*Sorghum halepense*) no Rio Grande do Norte, os sinais clínicos apresentados pelos

animais foram; agitação, cambaleio, depressão, tremores musculares, timpanismo, dispneia, salivação espumosa com ofegância, taquipnéia, incoordenação motora com andar cambaleante, dos quais dois animais apresentaram sinais mais graves; deitavam-se e levantavam-se constantemente evoluindo para uma marcada depressão, decúbito lateral e morte em um período de aproximadamente 3 horas após a ingestão. Os demais bovinos se recuperaram. (NÓBREGA *et al.*, 2006)

Em experimento realizado com 23 caprinos, com as folhas de *Cnidioscolus phyllacanthus* em diferentes tratamentos, mostraram sinais clínicos de taquicardia, taquipneia, dispneia, nistagmo, opistótono e decúbito esterno abdominal seguido de decúbito lateral. Ocorreu a morte de alguns caprinos, 30 minutos após o começo dos sinais na dose de folhas frescas de 4,7 g/kg de peso vivo por animal (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Amorim *et al.* (2005) em experimentação com caprinos, administrando doses únicas de até 12g/kg de peso vivo por animal, usando folhas frescas, murchas e dessecadas de *Manihot glaziovii* Muell. Arg, por via oral, relatam que os sinais clínicos foram caracterizados inicialmente por dificuldade de deglutição e por dispneia, seguido de mucosas cianóticas, ereção das orelhas, incoordenação, tremores musculares, nistagmo, e tremor de cabeça e das pálpebras, seguidos de queda e permanência em decúbito lateral com movimentos de pedalagem e opistótono. No entanto não há relatos na literatura de valores de HCN em intoxicação por manipueira em ovinos.

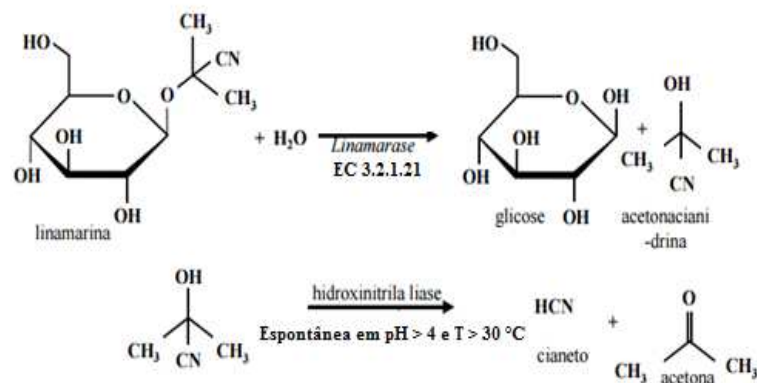
Na necropsia não se encontram lesões características. Evidencia-se a cor vermelho-brilhante do sangue, que apresenta dificuldade para coagular, escurecimento da musculatura, e observa-se congestão pulmonar, renal e hepática. Se tratando de planta cianogênica as folhas mastigadas podem ser encontradas na parte crânio-ventral do rúmen. Já os exames histológicos não revelam alterações significativas (GAVA *et al.*, 1992).

## 2.4 LINAMARINA E LOTAUSTRALINA

A linamarina foi isolada em 1906 lhe sendo atribuída a responsabilidade pela toxicidade da mandioca. Em 1965 foi evidenciado que a maioria das plantas que continham linamarina apresentavam também a metil linamarina ou lotaustralina. Em 1968, constatou-se que a linamarina e lotaustralina constituíam o material cianogênico da mandioca (CARVALHO e CARVALHO, 1979).

Depois da trituração ou maceração da mandioca a enzima linamarase cliva a linamarina e a lotaustralina, e imediatamente liberam HCN (NOK e IKEDIOSI, 1990). Após a hidrólise da linamarina há a formação da ludraxinitrila e glicose que é decomposta espontaneamente pela ação da hidroxinitrilalase a cianeto e acetona. Convencionou-se que a atividade da linamarase é o ponto limite na cianogênese (Figura 1).

**Figura 1-** Degradação da Linamarina.



Adaptado de Oliveira (2010).

Ocorre variação da atividade enzimática nos diferentes tecidos da planta, sendo as folhas e cascas as que possuem maior atividade, justamente onde são encontradas as maiores quantidades de glicosídeos cianogênicos. Estes são sintetizados e armazenados nos vacúolos foliares, e acredita-se que posteriormente atravessam a parede celular e se deslocam até a raiz ( COCK 1985; WHEATLEY, 1993 McMAHON *et al.*, 1995).

O pH também determina a atividade das enzimas. Quando ocorre dilaceração dos tecidos vegetais das raízes de mandioca, em decorrência do seu processamento, o glicosídeo cianogênico linamarina presente é clivado em glicose e acetonacianoidrina, devido à ação catalisadora da enzima (linamarase). Numa segunda e última etapa da cianogênese (processo de geração de HCN), a acetonacianoidrina é convertida em HCN e acetona (CHISTÉ *et al.*, 2007).

## 2.5 DOSES TÓXICAS DE CIANETO

Estudos realizados por Oliveira *et al.* (2013) determinaram a dose letal (DL) de manípueira para seres humanos, na ordem de 1,12 mg HCN/kg, comprovando a associação entre a exposição crônica ao cianeto na etiologia de alguns distúrbios do sistema nervoso, tais como neuropatia atáxica tropical, Konzo e neuropatia retrobulbar da anemia perniciosa (PANIGRAHI *et al.*, 1992). Além das encefalopatias, também produzem nefrotoxicidade e hepatotoxicidade como observado em ratos após uma exposição prolongada ao cianeto de potássio. Os mesmos apresentaram degeneração hidrópica das células epiteliais dos túbulos renais e degeneração hidrópica dos hepatócitos (SOUSA *et al.*, 2002).

Oke (1968) cita que o limite adotado em seres vivos é de 1 mg HCN/kg. Esses limites estudados subsidiaram a classificação das raízes de mandioca em bravas (acima de 100 mg de HCN/kg de raiz fresca sem casca) e mansas (menos de 50 mg de HCN/kg de raiz fresca sem casca) de acordo com a quantidade de HCN encontrada na raiz, que por seu teor de cianeto, atingisse ou ultrapassasse esse limite (CARVALHO, 1979; LOPES, 2001).

Segundo Lima (2001), doses com valores que vão de 30 a 150 ppm de ácido cianídrico, em raízes de mandioca fresca, são suficientes para causar a morte em seres humanos. Já Tokarnia *et al.* (2000) cita que a dose tóxica de HCN adotada é de 2 a 4 mg de HCN por kg/peso vivo por hora.

Amorim *et al.* (2005) cita que as doses tóxicas de *M. glaziovii* para caprinos, são de 5,3 a 12 g/kg peso vivo, as quais foram semelhantes às doses tóxicas para bovinos que são, de 5 a 12 g/kg peso vivo.



## 2.6 TRATAMENTO

Segundo Tokarnia *et al.* (2012) o tratamento rotineiro é feito através da aplicação intravenosa de uma mistura de nitrito de sódio e tiosulfato de sódio. A dose é feita dissolvendo-se 5 g de nitrito de sódio e 15 gramas de tiosulfato de sódio em 200 mL de água. A administração é feita por via venosa, lentamente na dose de 40 mL por 100kg de peso vivo, repetindo-se se necessário apenas uma vez, para evitar intoxicação por nitrito. O nitrito de sódio induz a formação de metemoglobina, que por sua vez se combina com o HCN para formar a cianometemoglobina, uma substância atóxica. O HCN é liberado deste composto e fixado pelo tiosulfato para formar o tiocianeto, substância menos tóxica que é eliminada pela urina.

Ótimos resultados tem sido obtidos em bovinos intoxicados experimentalmente usando-se apenas tiosulfato de sódio a 20 % por via intravenosa, porém em doses muito maiores (660mg/kg) podendo ser repetido (BLOOD e RADOSTITS, 1989). Já Amorim *et al.* (2004) experimentalmente usando bovinos intoxicados por plantas cianogênicas tratou com solução de tiosulfato de sódio a 20% na dose de 50 mL/100kg de peso vivo, por via intravenosa e os animais usados no experimento recuperam-se em poucos minutos.

### 3.0 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Estação Experimental para o Controle das Intoxicações por Plantas do Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (SPV-UFRB). O presente Projeto de Pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFRB com protocolo 23007.013398/2012-21.

#### 3.1 IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA

Exemplares da principal mandioca cultivada nos municípios do Recôncavo da Bahia foram encaminhados e identificados por um botânico como *Manihot esculenta* Crantz (Fig. 2A). Uma amostra da planta foi identificada e registrada e depositada no Herbário da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (HURB 8963).

#### 3.2 PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

A amostra de manipueira foi obtida em uma casa de farinha localizada no município de Cruz das Almas (12<sup>o</sup> 40' 12" S 39<sup>o</sup> 06' 07" O), região do Recôncavo da Bahia, Brasil. Nesta casa de farinha são utilizadas as variedades de “mandiocas bravas” mais ricas em glicosídeo, que são utilizadas na fabricação de farinha, goma e polvilho, após a eliminação do glicosídeo cianogênico por meio do calor. Realizou-se o seguinte método de processamento: os tubérculos de *M. esculenta* Crantz (Fig. 2B) foram lavados e descascados manualmente; em seguida, estes foram triturados em moinho, movido por energia elétrica.

A massa pastosa obtida a partir dessa trituração foi, em seguida, fortemente prensada (Fig. 2C), utilizando-se de prensa de madeira, acionada manualmente; a massa que ficava retida na prensa era de imediato esfarelada em um triturador elétrico e por fim, levada ao forno para secagem; depois de seca tinha-se a farinha, um pó branco, granuloso e fino e de sabor peculiar. Durante a prensagem da massa pastosa, etapa relatada anteriormente, fluía uma suspensão aquosa de tonalidade bege ou amarelada chamada de “manipueira” e de odor ativo, o qual era designado de “azogue” pelos

produtores. A “manipueira” sobrava com abundância, aproximadamente na proporção de 3:1, ou seja, 1 litro de “manipueira” para cada 3 kg de raízes de mandioca prensadas.

A manipueira foi coletada e armazenada em recipiente de plástico vedado e encaminhado uma parte para dosagem de ácido cianídrico (HCN) (0 hora) e a outra parte foi destinada para reprodução da intoxicação experimental em ovinos e para o teste do papel picrossódico. A manipueira restante foi mantida em recipiente de plástico aberto (Fig. 2D). Foram coletadas amostras desta manipueira nos períodos de 24 e 48 horas para a dosagem do HCN, teste do papel picrossódico e reprodução experimental em ovinos.

**Figura 2** - (A) Exemplos de *Manihot esculenta*. (B) Tubérculos de *M. esculenta*. (C) Massa de mandioca armazenada em sacos de linha, sobre os quadros de prensa e posterior prensagem desta massa ralada. (D) Manipueira, líquido rico em HCN, resultante da massa ralada das raízes de *M. esculenta* Crantz, variedade “brava” utilizada no experimento armazenada em recipiente de plástico aberto.



Acervo próprio

### 3.3 QUANTIFICAÇÃO DO CIANETO

Foram analisadas as amostras de manipueira em triplicata nos períodos 0, 24 e 48 horas após sua obtenção, para avaliar a perda da toxidez durante o período. Os compostos cianogênicos (cianeto livre,  $\alpha$ -hidroxinitrila e glicosídeos cianogênicos) presentes nas amostras foram analisados segundo metodologia de Essers (1994), a qual consiste na extração destes compostos para avaliação quantitativa pelo método de reação com cloramin T e isonicotinato 1,3 dimetilbarbiturato com determinação espectrofométrica a 605nm, em espectrofotômetro UV-Visível GENESYS 10S.

Na etapa de purificação da enzima linamarase, utilizou-se a metodologia proposta por Cooke (1979), na qual a quantidade total de cianeto é determinada pelo método colorimétrico, sendo o mesmo oxidado a haleto de cianogênio pela cloramina T. Esse composto reage com o ácido isonicotínico produzindo um composto intermediário, hidrolisando-se e produzindo um dialdeído conjugado. Este reage com amina primária ou com compostos que possuem grupamento metileno ativo com o ácido 1,3-dimetilbarbitúrico. (OLIVEIRA, 2010)

Com base no teor de cianeto determinado na amostra realizou-se a estimativa de cianeto consumido de acordo com o volume de manipueira administrado em cada animal. Estas doses foram calculadas com base nos valores fornecidos por Cereda *et al.* (2003).

### 3.4 TESTE DO PAPEL PICROSÓDICO

Para o teste, foram imersas tiras de papel em uma solução composta de 5g de carbonato de sódio e 0,5g de ácido pícrico em 100 mL de solução. As tiras de papel assim preparadas apresentam-se amarelas. Colocou-se amostra da manipueira em um vidro fechado, fixando-se a tira do papel de ensaio já seca na tampa do vidro, de modo que ficasse suspensa livremente acima do material. Em seguida manteve-se o vidro em posição vertical, à temperatura de 30°C a 35°C, e iniciou-se a contagem para observação na mudança de cor do papel. Para determinar a presença de HCN na manipueira, foi observada a mudança de cor do papel, primeiramente da cor amarela para laranja e, posteriormente para vermelho-tijolo. A intensidade da reação ao teste do papel picrosódico foi classificada em acentuada (mudança para coloração vermelho-tijolo em até 5 minutos), moderada (mudança de coloração para laranja entre 5 a 10 minutos), leve (mudança de coloração para laranja, após 10 minutos até 3 horas) e sem presença de HCN (coloração inalterada) (TOKARNIA *et al.*, 2012). Quanto mais rápido mudar a cor maior será a quantidade do HCN na amostra. O teste foi realizado nos tempos 0, 24 e 48 horas após obtenção da amostra e descanso da manipueira em recipiente de plástico na sombra.

### 3.5 EXPERIMENTO COM OVINOS

Foram utilizadas seis ovelhas híbridas, da raça Santa Inês, com idade média de 3 anos, com peso variando de 38 a 52 kg. Os animais foram mantidos em baias individuais, adaptados ao local e vermifugados com solução oral a base de fosfato de levamisol, receberam ração comercial (Ovinotech Nestlé Purina) em quantidade equivalente a 1% do peso vivo e água *ad libitum*. Antes do experimento os animais foram submetidos a jejum hídrico e alimentar de 12 horas e pesados para determinação da dose a ser ingerida. Os animais foram avaliados quanto às frequências cardíaca e respiratória, temperatura retal e movimentos ruminais, 10 minutos antes e 10 minutos depois da administração da manipueira nos dois dias de experimento (0 e 24 horas).

A administração da manipueira foi realizada via sonda esofágica em cada animal durante os tempos 0 e 24 horas após descanso em recipiente plástico aberto, em

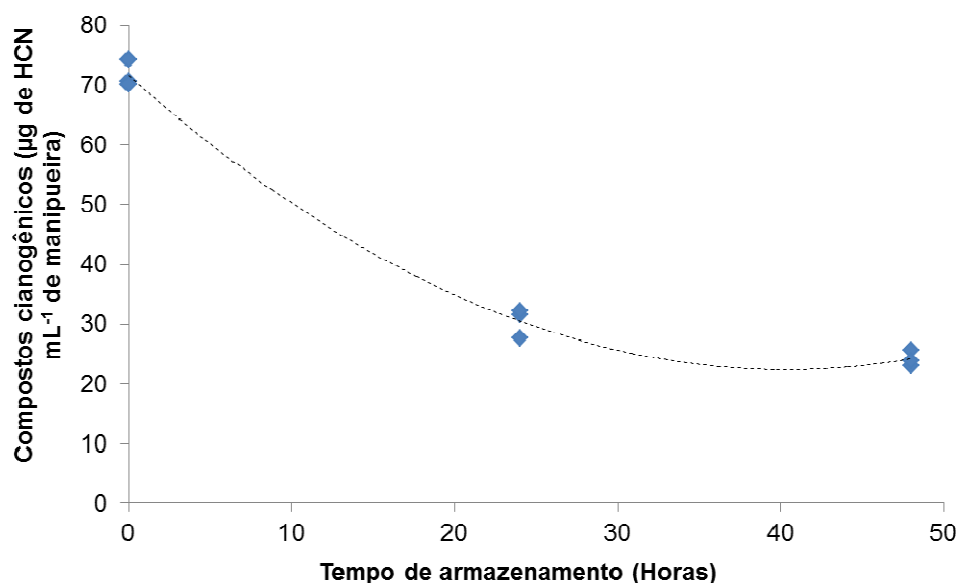
temperatura ambiente e à sombra. As doses foram únicas e administradas uma vez ao dia para cada animal.

No primeiro dia os animais receberam respectivamente doses de 0,99 mg/kg, 0,75 mg/kg, 0,70 mg/kg, 0,63 mg/kg e 0,5 mg/kg e o controle recebeu 0,0 mg/kg de HCN. Após 24 horas, as concentrações administradas para cada animal foram 0,46 mg/kg, 0,34 mg/kg, 0,31 mg/kg, 0,28 mg/kg, 0,23 mg/kg e 0,0 mg/kg de HCN. Nos dois dias foram administradas respectivamente para cada animal doses de manipueira com 14,2 mL/kg, 10,6 mL/kg, 9,8 mL/kg, 8,89 mL/kg e 7,1 mL/kg. O ovino controle recebeu 9,8 mL/kg de água. Após a administração se o animal apresentasse sinal clínico era aplicado uma solução aquosa de tiosulfato de sódio a 20% na dose de 0,5 mL/kg por via endovenosa (AMORIM *et al.*, 2005).

#### 4.0 RESULTADOS

A análise quantitativa dos teores de cianeto total da manipueira realizado em triplicata mostrou grande diminuição a cada dia exposta ao ar livre, atingindo metade da concentração de HCN após 24 horas de descanso na sombra em recipiente aberto em temperatura ambiente (Fig. 3).

**Figura 3** – Avaliação quantitativa, pelo método de reação com cloramian T e isonicotinato 1,3-dimetilbarbiturato com determinação espectrofométrica a 605nm, da perda de toxidez em amostras de manipueira a cada 24 horas.



#### 4.1 TESTE DO PAPEL PICROSÓDICO

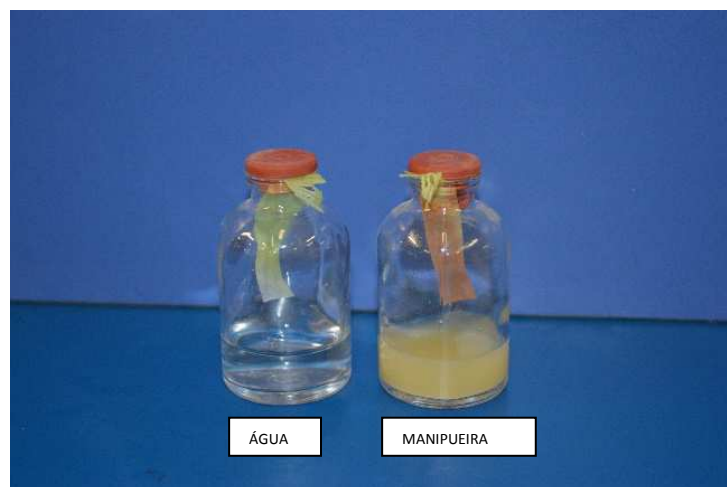
Os resultados do teste do papel picrosódico associados a toxicidade da manipueira em diferentes espaços de tempo de volatilização estão apresentadas na Tabela 2 . A volatilização do HCN da manipueira é observada na Figura 4.

**Tabela 2** - Reações do papel picrosódico utilizando manipueira

Tempo após colheita	Horário de realização e registro da reação		
	Início	Coloração	
		Laranja	Vermelho
0 hora	10:04	10:08 <sup>+++</sup>	10:09 <sup>+++</sup>
24 horas ao ar livre	10:04	10:11 <sup>++</sup>	10:15 <sup>++</sup>
48 horas ao ar livre	10:04	11:10 <sup>+</sup>	-

<sup>+++</sup> : reação acentuada; <sup>++</sup> : reação moderada; <sup>+</sup> : reação leve; - sem reação

**Figura 4** - Teste do papel picrosódico utilizando manipueira coletada no primeiro dia de experimento. Observe o frasco direito com papel cor vermelha apresentando reação positiva para presença de HCN após 5 minutos de exposição, na esquerda frasco controle (sem mudança de cor).



Acervo próprio.

## 4.2 EXPERIMENTO COM OVINOS

Todas as cinco ovelhas que receberam a dose de HCN no primeiro dia de experimento desenvolveram quadro clínico compatível com intoxicação aguda por HCN. A ovelha controle não desenvolveu sinal clínico. Os ovinos 2 na dose de 0,75 mg/kg peso vivo HCN, 1 na dose de 0,99 mg/kg peso vivo de HCN e 3 na dose de 0,70 mg/kg peso vivo HCN, desenvolveram sinais clínicos de taquicardia, taquipneia, midríase, hipomotilidade ruminal, sialorreia e narinas dilatadas, timpanismo, tremores musculares, polaciúria, andar cabaleante, decubito lateral, incoordenação motora (Fig. 6). Observe a midríase, salivação e narinas dilatadas (fig. 5)

Os ovinos 4, na dose de 0,63 mg/kg HCN, e 5 na dose de 0,5 mg/kg HCN, apresentaram somente taquicardia, taquipneia, discreta salivação. Todos os animais receberam tiosulfato de sódio a 20% na dose de 0,5 mL/kg de peso vivo e todos recuperaram-se no intervalo de tempo entre 10 a 40 minutos.

No segundo dia de experimento (24 horas após a colheita), somente os ovinos 1 e 2 apresentaram sinais clínicos leves de taquicardia e taquipneia. O animal 3 apresentou tremores musculares leves na região da musculatura pélvica e recuperou-se 40 minutos após aplicação do tiosulfato de sódio a 20%. Os ovinos 4 e 5 não apresentaram sinais clínicos de intoxicação após este período. A ovelha controle não desenvolveu sinal clínico. Dados referentes ao experimento estão representados na Tabela 4. Alterações dos parâmetros fisiológicos de ovinos intoxicados por manipueira antes e depois da administração, no primeiro dia de experimento estão representadas na Tabela 5. Já alterações dos parâmetros fisiológicos de ovinos intoxicados por manipueira antes e depois da administração no segundo dia de experimento estão representadas na Tabela 6.



**Figura 5** - Ovino 1 no primeiro dia, apresentando sialorreia intensa, narinas dilatadas e midríase, quinze minutos após receber a dose de 0,99 mgHCN/kg peso vivo.



Acervo próprio.

**Figura 6** - Ovino 1 no primeiro dia apresentando marcada dificuldade respiratória, com abertura do quadrilátero de sustentação, dezesseis minutos após receber a dose de 0,99 mgHCN/kg de peso vivo.



Acervo próprio.

Com relação aos valores das doses de HCN por quilograma de peso vivo, administradas em cada animal, no primeiro dia e no segundo dia com a mesma manipueira repousada em bacia plástica aberta na sombra, busque na Tabela 3.

**Tabela 3** - Relação das doses em mg/kg de peso vivo de HCN em cada animal nos dois dias de experimento.

<b>Ovino</b>	<b>Dose mg/kg HCN peso vivo no primeiro dia</b>	<b>Dose mg/kg HCN peso vivo no segundo dia</b>
1	0,99	0,43
2	0,75	0,34
3	0,70	0,31
4	0,63	0,28
5	0,50	0,23
6 <sup>C</sup>	0,00	0,00

<sup>C</sup>:Ovino controle.

**Tabela 4** - Experimento em ovinos com resíduo de *Manihot esculenta* (manipueira) durante dois dias, com diferentes concentrações mgHCN/kg peso vivo por animal.

Ovino	Peso	Data	Horário da administração	Início dos sinais clínicos	Dose (mgHCN/kgPV)	Total em mL	Sinais clínicos	Adm. tiossulfato de sódio (Horário)	Recuperação (Horário)
1	44 kg	09/12/2014	10:27 h	4 min 03 seg	0,99	624,0	Tremores, salivação, polaciúria, dilatação das narinas, andar cambaleante, taquicardia, taquipneia e hipomotilidade ruminal	10:40 h	11 :20 h
		10/12/2014	10:20 h	9 min	0,43	624,0	Leve taquicardia, taquipneia com tremores musculares	10:35 h	10:55 h
2	38 kg	09/12/2014	10:59 h	4 min 30 seg	0,75	403,0	Tremores, salivação, polaciúria dilatação das narinas, andar cambaleante, taquicardia, taquipneia e hipomotilidade ruminal e decúbito lateral	11:17 h	11:31 h
		10/12/2014	11:00 h	10 min	0,34	403,0	Leve taquicardia e taquipneia	11:21 h	11:38 h
3	52kg	09/12/2014	09:40 h	6 min	0,70	509,6	Tremores, salivação, polaciúria, andar cambaleante, dilatação das narinas, taquicardia e taquipneia, hipomotilidade ruminal	09:55 h	10: 20 h
		10/12/2014	09:42 h	0	0,31	509,6	Ausentes	10:00 h	10:00 h
4	48 kg	09/12/2014	11:28 h	5 min	0,63	427,0	Dilatação das narinas, discreta salivação taquicardia e taquipneia	11:46 h	12: 00 h
		10/12/2014	11:30 h	0	0,28	427,0	Ausente	11:40 h	11:40 h
5	40kg	09/12/2014	10:00 h	5 min	0,50	284,0	Dilatação das narinas, discreta salivação, taquicardia e taquipneia	10:20 h	10: 40 h
		10/12/2014	10:00 h	0	0,23	284,0	Ausentes	10:20 h	10:20 h
6 <sup>c</sup>	51kg	09 /12/2014	12:15 h	0	Água	500,0	Ausentes	0	0
		10 /12/2014	12:15 h	0	Água	500,0	Ausentes	0	0

**Tabela 5** - Alteração dos parâmetros fisiológicos de ovinos intoxicados por manipueira antes e depois da administração no primeiro dia de experimento.

<b>Ovino/Peso</b>	<b>Frequência Cardíaca Antes / Depois</b>	<b>Frequência Respiratória Antes / Depois</b>	<b>Movimentos ruminais a cada 2 minutos Antes / Depois</b>	<b>Temperatura retal (°C) Antes / Depois</b>
1/44kg	78 / 100	31 / 90	1 / 0	39,2 / 38,6
2/38kg	80 / 180	21 / 61	1 / 1	38,6 / 38,3
3/52kg	52 / 130	25 / 70	2 / 0	38,3 / 38,1
4/48kg	67 / 137	30 / 70	2 / 0	38,3 / 38,5
5/40kg	90 / 160	22 / 50	2 / 0	39,2 / 38,7
6 <sup>C</sup> /31kg	63 / 75	13 / 15	1 / 1	39,1 / 39,2

<sup>C</sup>:Ovino controle.

**Tabela 6** - Alteração dos parâmetros fisiológicos de ovinos intoxicados por manipueira antes e depois da administração no segundo dia de experimento.

<b>Ovino/Peso</b>	<b>Frequência Cardíaca Antes / Depois</b>	<b>Frequência Respiratória Antes / Depois</b>	<b>Movimentos ruminais a cada 2 minutos Antes / Depois</b>	<b>Temperatura retal (°C) Antes / Depois</b>
1/44kg	88 / 99	32 / 32	1 / 1	38,7 / 38,9
2/38kg	123 / 127	27 / 30	1 / 1	39,6 / 39,5
3/52kg	78 / 80	32 / 30	2 / 1	39,1 / 38,9
4/48kg	70 / 77	26 / 34	2 / 2	39,0 / 39,4
5/40kg	80 / 64	36 / 23	3 / 2	38,7 / 38,8
6 <sup>C</sup> /31kg	63 / 75	15 / 14	1 / 1	39,1 / 39,3

<sup>C</sup>:Ovino controle.

### 3.9 DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os resultados deste trabalho demonstram que o resíduo de *M. esculenta* Crantz conhecido como manipueira apresentou toxicidade durante dois dias quando exposta em temperatura ambiente. Na experimentação em ovinos, os aparecimentos dos sinais clínicos de intoxicação surgiram em poucos minutos após a administração da manipueira. De acordo com pesquisas, altas concentrações de cianeto podem causar a morte do animal em poucos minutos com sinais clínicos de convulsões, atonia ruminal, nistagmo e parada respiratória (SOTO-BLANCO e GÓRNIK, 2010).

Isso acontece devido ao íon cianeto ( $\text{CN}^-$ ) reagir com o  $\text{Fe}^{3+}$  da citocromo oxidase formando um complexo estável, na qual a cadeia de transporte de elétrons para e a respiração celular se detém, causando anóxia; como resultado a hemoglobina (Hb) não pode liberar mais oxigênio para que entre no sistema de transporte elétrico das células, pois o tecido estará com uma alta pressão de oxigênio (GONZÁLES e SILVA, 2006).

A manipueira mostrou-se tóxica para ovinos quando ingeridas no intervalo de 1 hora entre a coleta na casa de farinha até a administração aos animais. Porém, 24 horas após a colheita, com o mesmo volume e a concentração de HCN reduzida pela metade, os animais não apresentaram sinais clínicos significativos.

Almeida *et al.*, (2009), avaliando o ganho de peso em ovinos, na qual forneceram manipueira com doses desde 400ml a 1000ml/dia, durante 70 dias, e os animais não apresentaram nenhum grau de intoxicação, sendo que essa manipueira utilizada descansou em tonéis abertos e à sombra durante 15 dias. No presente trabalho ficou evidente através da análise quantitativa dos teores de cianeto total da manipueira, que há diminuição a cada dia de exposição ao ar livre, atingindo metade da concentração de HCN após 24 horas e decaindo para menos de  $\frac{1}{4}$  de concentração de HCN, após 48 horas de descanso na sombra em recipiente aberto em temperatura ambiente.

Amorim *et al.*, (2005), utilizando doses tóxicas de folhas frescas, murchas e dessecadas de *Manihot glaziovii* em caprinos na proporção de 5,3 a 12 g/kg peso vivo, entretanto este dado é referente a quantidade de folhas frescas sem a mensuração da concentração de HCN. Esse trabalho difere da presente pesquisa, a qual utilizou a (manipueira) com as mensurações exatas em miligramas de HCN por quilograma de

peso vivo utilizando a espécie ovina. Do mesmo modo, Amorim *et al.*, (2004) em experimento com seis amostras de *M. glaziovii* procedentes de diferentes municípios da Paraíba, Nordeste do Brasil, obtiveram intoxicação em bovinos com 10g/kg de folhas, com apresentação dos primeiros sinais clínicos 20 minutos após administração da planta. Isso evidencia nesse trabalho que animais intoxicados por manipueira apresentaram sinais clínicos em menos tempo, se comparados com intoxicação por plantas cianogênicas. Provavelmente a manipueira, por se apresentar em meio líquido, os glicosídeos cianogênicos já se encontram difundidos no meio e seria mais facilmente absorvido pelo organismo, ao contrário das folhas de *Manihot* spp, que ainda seriam digeridas e quebradas no rumem do animal, por isso o tempo de apresentação dos sinais clínicos por ingestão da manipueira seriam mais agudos comparados à ingestão das folhas da planta.

Isto também é evidenciado pelo feito de que redução efetiva do nível de composto cianogênico ocorre na ralação ou trituração, que permite que a ruptura das células libere a linamarase, enzima que cliva a linamarina formando o HCN livre; na torração da massa de raízes raladas há inativação dos resíduos de cianeto livre (CAGNON *et al.*, 2002).

Por hidrólise enzimática durante a raspagem e ralagem da mandioca, 70% da linamarina é removida da raiz para a manipueira, potencializando efeito tóxico da mesma (HOSEL e BARZ, 1975). Mesmo assim, a linamarina que sobra na massa triturada e não hidrolisada, quando manuseada pode causar intoxicação em seres humanos e animais (BALAGOPALAN *et al.*, 1988), o que explica as pessoas sofrerem episódios de síncope ao manusear a massa triturada, inalando pequenas quantidades de cianeto volatilizado, como foi descrito neste trabalho.

No presente experimento os animais apresentaram sinais clínicos caracterizados principalmente por salivação, taquipneia, taquicardia, tremores musculares, andar cambaleante, dilatação das narinas e hipomotilidade ruminal e decúbito lateral sinais clínicos semelhantes a outros trabalhos realizados com plantas cianogênicas (RIET-CORREA *et al.*, 2011; TOKARNIA *et al.*, 2012).

Os resultados do teste do papel picrossódico associado a toxicidade da manipueira em diferentes espaços de tempo de volatilização mostraram-se eficientes na constatação da presença de HCN na manipueira, contudo Tokarnia *et al.* (2012) relatam

que o teste do papel picrossódico pode apresentar variações nas reações a depender da quantidade de HCN que está sendo liberado pela planta, onde reações mais lentas podem representar graus menores de toxidez nas plantas.

É importante salientar que os glicosídeos cianogênicos são solúveis em água, liberando mais ácido cianídrico quando misturados pela mesma (CEREDA, 2003), isto explicaria o porquê da manipueira ser mais tóxica e reagir rapidamente ao teste do papel picrossódico. Quanto mais rápido mudar a cor maior será a quantidade de cianeto (RIET-CORREA *et al.*, 2011).

No presente trabalho pode-se evidenciar que a alta toxicidade da manipueira esteve associada com a rapidez em que ocorreu a reação do papel para vermelho tijolo. Como demonstrado anteriormente, o teste do papel picrossódico mostrou-se eficiente na observação de HCN, o que sugere também que este teste poderá ser utilizado para determinar a toxicidade da manipueira, quando a mesma for administrada aos animais como alimento ou utilizada para outros fins como produção de adubo orgânico (FERREIRA *et al.*, 2001).

O tratamento dos animais intoxicados por manipueira na dosagem de 0,5 mL/kg PV de tiosulfato de sódio a 20% foi eficaz, promoveu a recuperação dos animais entre 10 a 40 minutos após aplicação por via intravenosa nos dois dias de experimento. O tratamento deve levar a quebra da união entre o  $\text{CN}^-$  e o  $\text{Fe}^{3+}$  da citocromo oxidase, onde o nitrito de sódio provoca a formação de metemoglobina (MetHb), a qual concorre com a citocromo oxidase pelo íon  $\text{CN}^-$  para formar ciano-MetHb, onde a MetHb tem maior afinidade pelo  $\text{CN}^-$  que a citocromo oxidase. Nesse tratamento, o tiosulfato reage com o íon cianeto (com a enzima rodanase) para formar tiocianeto, que é excretado pela urina (GONZÁLEZ e SILVA, 2006).

Trabalhos semelhantes com intoxicação experimental por plantas cianogênicas obtiveram resultados positivos quanto ao tratamento em caprinos e bovinos intoxicados por *M. glaziovii* (SOTO-BLANCO *et al.*, 2004; TOKARNIA *et al.*, 2012). Porém a aplicação deve ser feita nos primeiros instantes da intoxicação, pois rapidamente se estabelece a intoxicação e isto inviabiliza seu uso rotineiro a campo, sendo que na maioria dos casos os animais já são encontrados mortos (RIET-CORREA *et al.*, 2011).

Deve-se realizar o diagnóstico diferencial para outras plantas tóxicas que acometem animais de produção, especialmente as cianogênicas. Dentre estas estão a

*Anadenanthera colubrina* var. *cebil*, *Piptadenia viridiflora*, *Cnidoscolus quercifolius* e *Sorghum halepense*. Também para plantas que causam falha cardíaca aguda associada ao exercício como *Palicourea aeneofusca*, *P. marcgravii*, *Amorimia rigida* e *A. elegans* (RIET-CORREA *et al.*, 2011). Tokarnia *et al.* (2012) cita que estas plantas estão presentes em todo Nordeste brasileiro.

O descuido ou desconhecimento dos produtores do potencial tóxico da manipueira contribuem com as intoxicações.

A associação dos sinais clínicos evidenciados no experimento, o rápido surgimento destes após ingestão, além da confirmação da presença de HCN pelo teste do papel picrossódico e sua quantificação confirmaram a toxicidade da manipueira para a espécie ovina. A resposta ao tratamento com antídoto se mostrou muito eficaz, quando administrada nos primeiros 15 minutos após os primeiros sinais clínicos de intoxicação.

Mediante análises dos procedimentos experimentais em ovinos a partir dos relatos obtidos em entrevistas com produtores de farinha sobre possíveis casos de intoxicação por manipueira na região do recôncavo da Bahia, conclui-se que a manipueira subproduto de *M. esculenta* possui quantidade suficiente de HCN capaz de intoxicá-los a partir de 0,34 mg/kg de peso vivo, na concentração de 0,007mgHCN/mL de manipueira. Ou seja, um animal pesando 40 kg precisaria ingerir 284 mL de manipueira para se intoxicar. Portanto, devido a esta alta toxicidade para os ovinos, é importante informar aos produtores de farinha para tomarem os devidos cuidados quanto ao descarte correto da manipueira no meio ambiente, cercando as áreas e impedindo o consumo do resíduo pelos animais, evitando prejuízos.



## **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem ao INCT pelo apoio financeiro, para o controle das intoxicações por plantas/CNPq (Proc. nº. 573534/2008-0).

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ALMEIDA, S.R.M. et al. **Avaliação do Potencial nutritivo da Manipueira na dieta de ovinos deslanados.** Revista Brasileira de Agroecologia, v. 4, n. 2, p.1434-1438, 2009.

AMORIM, S. L.; MEDEIROS, R. M. T.; RIET-CORREA, F. **Intoxicação experimental por *Manihot Glaziovii* (Euphorbiceae) em caprinos.** Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 25, p.179-187, 2005.

AMORIM, S.L. et al. **Intoxicação experimental com plantas cianogênicas em bovinos.** Pesquisa veterinária Brasileira, v. 24, p. 5-6, 2004.

AMORIM, S. L. et al. Intoxicação experimental por *Manihot sp.* em caprinos, p. 667-667. **In:** II Simpósio Internacional sobre caprinos e ovinos de corte, João Pessoa. Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba, 2003.

BALAGOPALAN C. et al. **Cassava in food. Feed and Industry.** CRC. Press. Inc Boca Raton, Florida, p. 205, 1988. ISBN 0-8493-4560-X

BALLANTYNE, B. **Toxicology of cyanides.** Bristol: Wright, p.3126-3127, 1987.

BARANA, A. C. Avaliação de tratamento de manipueira em biodigestores fase acidogênica e metanogênica. 2000. 96 f. **Tese** (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista. Botucatu.

BARANA, A. C.; CEREDA, M. P. **Cassava wastewater manipueira treatment using a two-phase anaerobic biodigester.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.20, n.2, p.183-186, 2000.

BLOOD, D. C.; RADOSTITS, O. M. **Veterinary Medicine.** 7. ed. Bailliere Tindall, London, p.1276-1279, 1989.

BOURDOUX P. et al. Cassava Products: HCN content and detoxification processes, In: Delange F., Iteke F.B., Ermans A.M. Nutritional factors involved in the goitrogenic action of cassava. **IDRC (Series) 184e** International Development Research Centre Ottawa, CA. p. 51-58. 1982.

BRASIL, I.B.G.E . **Banco de dados agregados**. 2011. Disponível em:<<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em 15/09/2015.

BURROWS, G. E. **Cyanid intoxication in sheep: Therapeutics**. Veterinary Human Toxicology, v. 23, p. 22-28, 1981.

CAGNON, J. R.; CEREDA, M. P.; PANTAROTTO, S. **Cultura de tuberosas amiláceas latino-americanas**, v. 2, Fundação Cargill, São Paulo, Brasil. CD-ROM. 2002.

CÂMARA, A. C. L.; DALCIN, L.; SOTO-BLANCO, B. **Patogênese, sinais clínicos e epidemiologia das intoxicações por plantas cianogênicas no nordeste brasileiro**. Ciências Agrárias, Londrina, v. 35, n. 4, p. 1961-1972, 2014.

CANELLA C. F. C.; DÖBEREINER J. & TOKARNIA C. H. **Intoxicação experimental pela maniçoba (*Manihot glaziovii* Muell. Arg.) em bovinos**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.3, p. 347-350, 1968.

CARDOSO, C. E. L.; SOUZA, J. S. **Aspectos agro econômicos da cultura da mandioca: potencialidades e limitações**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, p. 27, 1999.

CARVALHO, J. P. C. C. Studies on the aliphatic Ketone cyanohydrin hydroxynitrile lyase from *Manihot esculenta* Crantz. 1979. 89p. **Thesis (PhD)** - University of California, Davis.

CARVALHO, V. D.; CARVALHO, J. G. **Princípios tóxicos da mandioca.**

Informação Agropecuária, v. 5, p. 82-88, 1979.

CEREDA M. P. **Resíduos da industrialização da mandioca no Brasil.** Editora

Paulicéia, São Paulo, p. 174, 1994.

CEREDA, M. P. **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca.** São Paulo. Fundação Cargill, v. 4, p. 13-37. 2001.

CEREDA M. P. **Processamento da mandioca como mecanismo de detoxificação.**

São Paulo. Fundação Cargill, p. 47-81. 2003.

CEREDA, M. P.; FIORETTO, A. M. C. Potencial de água residual de fecularia. In:

CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, **Anais...**Cruz das Almas: 1981. p.

147-183.

CHISTÉ, K. O.; COHEN, S. S. O.; RENAN, C. **Estudo das propriedades físico-**

**químicas do tucupi.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 27, n. 3, p. 437-440, 2007.

COCK, J. H. **Cassava: new potential for a neglected crop,** London: Westfield Press,

p. 191, 1985.

COOKE, R. D. **An enzymatic assay for the total cyanide content of cassava**

**(Manihot esculenta Crantz).** Journal of the Science of Food and Agriculture, v, 29, p.

345-52, 1979.

ESSERS A. J. A. **Further improving the enzymic assay for cyanogens in cassava**

**products.** Acta Horticultura, v. 375, p. 97-104, 1994.

FERNANDES J, A. Digestão anaeróbia de manipueira em separação de fases: cinética da fase acidogênica. 1995. 140f. **Tese** (Doutorado) - Faculdade de Ciências

Agronômicas, Universidade Estadual Paulista. Botucatu. 1995.

FERREIRA W. A.; BOTELHO S. M.; CARDOSO E.M.R. & POLTRONIERI M.C.

**Manipueira: um adubo orgânico em potencial.** Embrapa Amazônia Oriental, Belém, p. 25, 2001.

FIORETTO R. A. **Uso direto da manipueira em fertirrigação.** São Paulo: Fundação Cargill, p. 67-79, 2001.

GAVA, A. et al. **Intoxicação experimental por *Prunus sellowii* (Rosaceae) em bovinos.** Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 12, p. 1- 4, 1992.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária.** Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2006. p. 357.

HOSEL W. & BARZ W.  **$\beta$ -glucosidases from *Cicer arietum* L.** Eur. Journal Biochemistry, v. 57, p. 607-616, 1975.

IKEDIOSI C. D.; IBRAHIM S.; OGBONNA A. **Linamarase from *Fusarium esquisiti*.** Applied microbiology and biotechnology, v. 25, p. 327-333, 1993.

KENT, R. O. **Manual de toxicologia clínica,** 6. ed. Editora: Mcgraw-Hill, 2014. 558 p

LIMA, J. W. C. Análise ambiental do processo produtivo de polvilho em indústrias do Extremo Sul de Santa Catarina. 2001. 90f. **Dissertação** - Engenharia de Produção. Universidade federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2001.

LOPES, A. M. Avaliação da dose letal 'DL ind. 50' oral e efeitos metabólicos da linamarina extraída de mandioca, em ratos. 2001. 97f. **Tese** - Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista. Botucatu, São Paulo. 2001

MAGALHÃES, C. P. Estudo sobre as bases bioquímicas da toxicidade da manipueira a insetos, nematóides e fungos. 1998. 118f. **Dissertação** – Universidade Federal do Ceará. Fortaleza. 1998.

McMAHON, J. M.; WHITE, W. L. B.; SAYRE, T. R. **Cyanogenesis in cassava (*Manihot esculenta* Crantz)**. Journal Experimental botany, v. 46, n. 288, p. 731-741, 1995.

MEDEIROS J. M. et al. **Mortalidade perinatal em caprinos no semiárido da Paraíba**. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 25, n. 4, p. 201-206, 2005.

MENDEZ, M. D. C & SCHILD, A. L. **Intoxicação por plantas e micotoxicoses em animais domésticos**. Editorial Agropecuária Hemisfério Sul do Brasil, Pelotas RS, Brasil. 1993.

MONTAGNAC, J. A.; DAVIS, C. R.; TANUMIHARDJO, S. A. **Processing techniques to reduce toxicity and antinutrientes of cassava for use as a staple food**. Reviews in Food Science and Food Safety, Oxford, Inglaterra v. 8, n. 1, p. 17-27. 2009.

NAMBISAN, B. Evaluation of the effect of various processing techniques on cyanogens content reduction in cassava. In: **International Workshop on Cassava Safety**. 375. p. 203-207, 1994.

NÓBREGA, J. J. E. et al. **Intoxicação por *Sorghum halepense* (Poaceae) em bovinos no semi-árido**. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 26, n. 4, p. 201-204, 2006.

NOK, A. J.; IKEDIABI, C.O. **Purification and some properties of linamarase from cassava (*Manihot esculenta*) cortex**. Journal of Food Biochemistry, v. 14, n. 6, p. 477-489, 1990.

OKE, O.L. **Cassava as food in Nigéria.** World Review Nutritional Dietetics, v. 96, p. 227- 250, 1968.

OLIVEIRA D. M. et al. **Intoxicação por *Cnidocolus phyllacanthus* (Euphorbiaceae) em caprinos.** Pesquisa Veterinária Brasileira, v, 28 n. 1, p. 36-42, 2008.

OLIVEIRA, L, F. D.; SILVA, A. M.; AMADOR, M. B. M., **impactos ambientais e sociais acarretados pelo mau armazenamento da manipueira.** Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista, v. 9, n. 6, 2013.

OLIVEIRA, L. A. **Análises físico química de frutas e mandioca.** Manual de laboratório: 1º ed. Cruz das Almas: Embrapa mandioca e fruticultura p.175-200, 2010.

PANIGRAHI, S. et al. **Effets of different rates, of drying cassava root onists toxicity to broiler chicks.** British Poultry Science, v. 33, p. 1025, 1992.

PENTEADO, M. V. C.; FLORES, C. I. O. **Folhas de mandioca como fonte de nutrientes.** São Paulo: Fundação Cargill, v. 4, p. 49-65, 2001.

PINHEIRO E.E.G et al.. Plantas tóxicas para animais de produção no Recôncavo da Bahia. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, XL – COBRAVET- 2013 Salvador. **Anais ...** Salvador: SBM ORG 2013, p. 653.

PONTE, J. J. **Uso do composto como insumo agrícola.** 3. ed. Cartilha da manipueira: banco do nordeste do Brasil, fortaleza, p. 27, 2006.

POTENCIANO, J. M. J. Análise do dimensionamento de diferentes biodigestores para o tratamento da manipueira. 2012. 52f. **(Monografia)** - Universidade Estadual de Goiás. Anápolis 2012.

RADOSTITS O. M.; GAY C. C.; BLOOD D.C. & HINCHCLIFF, K.W. **Veterinary medicine: a textbook of diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses**. 9. ed . W.B. Saunders, London, p. 1631-1636, 2000.

RADOSTITS, O.M., BLOOD, D.C., HINCHCLIFF, K.W. **Clínica Veterinária: Um tratado de doenças de bovinos, ovinos, caprinos, suínos e eqüídeos**. 9. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.1737, 2002.

RIET-CORREA F.; BEZERRA C. W. C. & MEDEIROS R.M.T. **Plantas Tóxicas do Nordeste**. Sociedade Vicente Pallotti, Santa Maria. 82p. 2011.

SAAD, A. D.; CAMARGO, W. V. A. **Intoxicação cianídrica em animais domésticos**. *Biológico*, v. 33, p. 211-220. 1967.

SANTOS, A. **Usos e impactos ambientais causados pela manipueira na microregião sudoeste da Bahia-Brasil**. *Problemas sociales y regionales em América Latina: estudio de casos*. Barcelona: Universitat de Barcelona, p. 11-25, 2009.

SOTO-BLANCO, B.; SCHUMAHER-HENRIQUE, B.; GORNIAC, S. L. **Toxicidade da administração prolongada das folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) a cabras adultas**. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 24, p. 71-72. 2004.

SOTO-BLANCO B. & GÓRNIAC S. L. 2010. **Toxic effects of prolonged administration of leaves of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) to goats**. *Experimental and Toxicologic Pathology*, v. 62, p.361-366, 2010.

SOUSA, A. B. et al. **Does prolonged oral exposure to cyanide promote hepatotoxicity and nephrotoxicity**. *Toxicology*, v. 24, p. 87-95, 2002.



TELES, F. F. Técnicas de liberação do HCN e toxidez cianogênica das mandiocas. **Information Agropecuary, Belo Horizonte**. v. 13, p. 18-22, 1987.

TOKARNIA C. H. et al. **Plantas tóxicas do Brasil para animais de produção**. Editora Helianthus, Rio de Janeiro, 2º. ed. p. 443-459, 2012.

TOKARNIA, C.H. et al. **Estudos experimentais com plantas cianogênicas em bovinos**. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 19, n.2, p. 84-90, 1999.

TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas tóxicas do Brasil**. Ed. Helianthus, Rio de Janeiro. 1º ed. p. 215-221, 2000.

VETTER, J. **Plant cyanogenic glycosides**. *Toxicon*, v. 38, p. 11-36, 2000.

VOGEL, S. N; SULTAN, T. R.; TEN EYCK, R. P. **Cyanide poisoning**. *Clinical Toxicology*, v. 18, n. 3, p. 367-383, 1981.

WHEATLEY, C.C. **Quality evaluation of cassava core collection at CIAT**. In:\_\_\_\_\_. Proceedings of the first international scientific meeting, Cartagena. The cassava biotechnology network. Colombia. p. 255-264, 1993.

YOUSSEF, S.; MAXIE, M. G. Nervous System. IN: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. **Pathology of domestic animals**. v. 3. 5.ed. London: Academic Press, p.347-348. 2004.

**ANEXO 1**

**Artigo submetido para, Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal.**

**Brazilian Journal of Animal Health and Production ISSN: 15199940**

## **INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR MANIPUEIRA, SUBPRODUTO DE *MANIHOT ESCULENTA* CRANTZ EM OVINOS**

### **Experimental poisoning by cassava by-product of *Manihot esculenta* Crantz in sheep**

SILVA, Valdir Carneiro <sup>1</sup>, PEDROSO, Pedro Miguel Ocampos <sup>2\*</sup>

#### **RESUMO**

O objetivo do presente trabalho foi determinar a dose tóxica e caracterizar os principais aspectos clínicos e patológicos da intoxicação por manipueira em ovinos. Seis Ovinos receberam diferentes doses de manipueira. No experimento 1, os animais receberam respectivamente doses de 0,99 mg/kg, 0,75 mg/kg, 0,70 mg/kg, 0,63 mg/kg e 0,5 mg/kg de HCN e o controle recebeu 500 mL de água. Após 24 horas, as concentrações administradas para cada animal foram 0,46 mg/kg, 0,34 mg/kg, 0,31 mg/kg, 0,28 mg/kg, 0,23 mg/kg de HCN e 0,0 mg/kg (controle). Foi realizada avaliação quantitativa de cianeto no laboratório da embrapa mandioca e fruticultura e teste do papel picrossódico nos períodos 0, 24 e 48 horas após obtenção da amostra e descanso da mesma em recipiente de plástico na sombra. Os ovinos que receberam doses de 0,99 mg/kg, 0,75 mg/Kg e 0,70 mg/kg 0,63 mg/kg e 0,5 mg/kg de HCN, desenvolveram sinais clínicos de taquicardia, taquipneia, midríase, sialorreia e narinas dilatadas, incoordenação motora, tremores musculares, atonia ruminal e timpanismo, porém as doses de 0,63 mg/kg e 0,5 mg/kg esses sinais forão mais leves. A análise quantitativa dos teores de cianeto total da manipueira foram de 0,07 mg/mL no primeiro dia, após 24 horas de descanso em bacia plástica aberta decaiu para 0,03 mg/mL e com 48 horas para 0,02 mg/mL. No experimento 2, somente dois ovinos com doses de 0,46 mg/kg e 0,34 mg/kg apresentaram sinais clínicos de taquicardia e taquipneia. No teste do papel

picrosódico, observou-se reação positiva acentuada para presença de HCN 5 minutos após exposição na hora 0, reação positiva moderada depois de 11 minutos na hora 24 e sem reação às 48 horas. Manipueira subproduto de *M. esculenta* causa intoxicação em ovino com dose a partir de 0,34 mg/kg/peso vivo de HCN, após 10 minutos.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** ácido cianídrico, mandioca, Nordeste Brasil, ruminante.

<sup>1</sup> Setor de Patologia Veterinária, Hospital Universitário de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Rua Rui Barbosa 710, Campus Universitário, BA, 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia.

<sup>2</sup> Laboratório de Patologia Veterinária, Fundação Universidade de Brasília (UnB), Campus Universitário Darcy Ribeiro, Via L4 Norte s/n, Brasília, DF 70910-970. \*Autor para correspondência: [pedrosovet@yahoo.com.br](mailto:pedrosovet@yahoo.com.br)

## ABSTRACT

The objective of this study was to determine the toxic dose and characterize the main clinical aspects of poisoning manipueira in sheep. Six sheep received different doses of cassava. On the first day the animals treated respectively with doses of 0.99 mg / kg, 0.75 mg / kg, 0.70 mg / kg, 0.63 mg / kg and 0.5 mg / kg and 0.0 mg / kg HCN. After 24 hours, the concentrations for each animal were administered 0.46 mg / kg, 0.34 mg / kg, 0.31 mg / kg, 0.28 mg / kg, 0.23 mg / kg and 0.0 mg / kg HCN. cyanide quantitative evaluation was performed and test picrosodic role in the periods 0, 24 and 48 hours after obtaining the sample and rest of the same plastic container in the shade. Sheep that received doses of 0.99 mg / kg, 0.75 mg / kg and 0.70 mg / kg HCN respectively develop acute clinical signs of tachycardia, tachypnea, dilation of the pupils, nostrils dilated and hypersalivation, incoordination , muscle tremors, ruminal bloat and sluggishness. The quantitative analysis of total cyanide levels manipueira reached half the concentration of HCN after 24 hours of rest. On the second day of the experiment only two sheep at doses of 0.46 mg / kg and 0.34 mg / kg showed clinical signs of tachycardia and tachypnea. In the test picrosodic paper, there was marked positive reaction for the presence of HCN 5 minutes after exposure at time 0, moderate positive reaction after 11 minutes at the time 24 and no reaction to 48 hours. Manipueira byproduct of *M. esculenta* cause poisoning in sheep with dose from 0.34 mg / kg of HCN by live weight, after 10 minutes.

**INDEX TERMS:** hydrocyanic acid, cassava, Northeastern Brazil, ruminant.

## INTRODUÇÃO

São consideradas plantas cianogênicas aquelas que contêm glicosídeos cianogênicos, potencialmente hidrolisáveis que liberam cianeto. O ácido cianídrico (HCN) é considerado como uma das substâncias mais tóxicas que se conhecem (TOKARNIA et al. 2012). Dentre as plantas tóxicas cianogênicas destaca-se a mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). Na industrialização da mandioca para a produção de farinha e extração de fécula são gerados coprodutos sólidos e líquidos (CEREDA, 2009). O resíduo líquido, de aspecto leitoso e coloração amarelo-clara que escorre das raízes da mandioca previamente raladas (*M. esculenta* Crantz) é comumente chamado de “manipueira” ou “água de mandioca” (CEREDA, 2001).

A toxicidade da manipueira se deve à presença do ácido cianídrico (HCN). Os glicosídeos acumulados na mandioca são a linamarina, que representa 95% do conteúdo total de compostos cianogênicos, e a lotaustralina, representando 5% (MONTAGNAC et al. 2009).

Durante o processamento da mandioca para fabricação de farinha, ocorre hidrólise enzimática da linamarina, que promove a liberação de HCN (COGNON et al. 2002). A manipueira tem sido utilizada na produção animal quando a mesma é colocada em repouso em tonéis abertos e à sombra durante 15 dias, sendo bem aceita pelos animais e apresentando boa palatabilidade (ALMEIDA et al. 2009), e só causando intoxicação quando os animais consomem o resíduo antes dos três dias de repouso (RIET-CORREA et al. 2011).

A investigação referente à intoxicação por “manipueira” surgiu a partir de resultados obtidos de um levantamento das principais plantas tóxicas para animais de produção na região do Recôncavo da Bahia, Nordeste do Brasil, realizada no período de setembro de 2011 a setembro de 2013 (PINHEIRO et al. 2013). Nesse levantamento a principal intoxicação mencionada pelos produtores foi pelo resíduo de *M. esculenta* Crantz (20\67), afetando bovinos, suínos, asininos, ovinos e galinhas. Na região não há interesse por parte dos produtores em utilizá-la para alimentação animal. Esse líquido normalmente fica armazenado em locais desprotegidos próximos às casas de farinha. Todos os relatos de intoxicação ocorreram de forma acidental, por descarte incorreto da manipueira em canaletas que conectavam o interior da casa de farinha ao lado externo, sem um local correto para descarte, ficando desprotegida e sem isolamento da área, permitindo que os animais tivessem acesso a este material e pudessem se intoxicar. A

partir desses dados o objetivo do presente trabalho foi de determinar a dose tóxica e caracterizar os principais aspectos clínicos da intoxicação por manipueira em ovinos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi realizado na Estação Experimental para o Controle das Intoxicações por Plantas do Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (SPV-UFRB). O presente Projeto de Pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFRB com protocolo 23007.013398/2012-21.

### **IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA**

Exemplares da principal mandioca cultivada nos municípios do Recôncavo da Bahia foram encaminhadas e identificadas por um Botânico como *Manihot esculenta* Crantz (Fig. 2A). Uma amostra da planta foi identificada e registrada (HURB 8963) e depositada no Herbário da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

### **PREPARAÇÃO DA AMOSTRA**

A amostra de manipueira foi obtida em uma casa de farinha localizada no município de Cruz das Almas (12<sup>o</sup> 40' 12" S 39<sup>o</sup> 06' 07" O), região do Recôncavo da Bahia, Brasil. Nesta casa de farinha são utilizadas as variedades de “mandiocas bravas”, mais ricas em glicosídeo, que são utilizadas na fabricação de farinha, goma e polvilho, após a eliminação do glicosídeo cianogênico por meio do calor. Realizou-se o seguinte método de processamento: os tubérculos de *M. esculenta* Crantz (Fig. 2B) foram lavados e descascados manualmente; em seguida, estes foram triturados em moinho, movido por energia elétrica.

A massa pastosa obtida a partir dessa trituração foi, em seguida, fortemente prensada (Fig. 2C), utilizando-se de prensa de madeira, acionada manualmente; a massa que ficava retida na prensa era de imediato, esfarelada em um triturador elétrico e por fim, levada ao forno para secagem; depois de seca tinha-se a farinha, um pó branco, granuloso e fino e de sabor peculiar. Durante a prensagem da massa pastosa, etapa

relatada anteriormente, fluía uma suspensão aquosa de tonalidade bege ou amarelada chamado de “manipueira” e de odor ativo, o qual era designado de “azogue” pelos produtores. A “manipueira” sobrava com abundância, aproximadamente na proporção de 3:1, ou seja, 1 litro de “manipueira” para cada 3 kg de raízes de mandioca prensadas.

A manipueira foi coletada e armazenada em recipiente de plástico vedado e encaminhado uma parte para dosagem de ácido cianídrico (HCN) (0 hora) e a outra parte foi destinada para reprodução da intoxicação experimental em ovinos e para o teste do papel picrossódico. A manipueira restante foi mantida em recipiente de plástico aberto (Fig. 2D). Foram coletadas amostras desta manipueira nos períodos de 24 e 48 horas para a dosagem do HCN, teste do papel picrossódico e reprodução experimental em ovinos.

**Figura 2-** (A) Exemplos de *Manihot esculenta*. (B) Tubérculos de *M. esculenta*. (C) Massa de mandioca armazenados em sacos de linha, sobre os quadros de prensa e posterior prensagem desta, massa ralada. (D) Manipueira, líquido rico em HCN, resultante da massa ralada das raízes de *M. esculenta* Crantz, variedade “brava” utilizada no experimento armazenada em recipiente de plástico aberto.



## QUANTIFICAÇÃO DO CIANETO

Foram analisadas as amostras de manipueira em triplicata nos períodos 0, 24 e 48 horas após sua obtenção, para avaliar a perda da toxidez durante o período. Os compostos cianogênicos (cianeto livre,  $\alpha$ -hidroxinitrila e glicosídeos cianogênicos) presentes nas amostras foram analisados segundo metodologia de Essers (1994), a qual consiste na extração destes compostos para avaliação quantitativa pelo método de reação com cloramina T e isonicotinato 1,3 dimetilbarbiturato com determinação espectrofométrica a 605nm, em espectrofotômetro UV-Visível GENESYS 10S.

A etapa de purificação da enzima linamarase, utilizou-se a metodologia proposta por Cooke (1979), na qual a quantidade total de cianeto é determinada pelo método colorimétrico, sendo o mesmo oxidado a haleto de cianogênio pela cloramina T, esse composto reage com o ácido isonicotínico produzindo um composto intermediário, hidrolisando-se e produzindo um dialdeído conjugado. Este reage com amina primária ou com compostos que possuem grupamento metileno ativo com o ácido 1,3-dimetilbarbitúrico. (OLIVEIRA, 2010)

Com base no teor de cianeto determinado na amostra realizou-se a estimativa de cianeto consumido de acordo com o volume de manipueira administrado em cada animal. Estas doses foram calculadas com base nos valores fornecidos por Cereda (2003).



### TESTE DO PAPEL PICROSÓDICO

Para o teste, foram imersas tiras de papel em uma solução composta de 5g de carbonato de sódio e 0,5g de ácido pícrico em 100 mL de solução. As tiras de papel assim preparadas apresentam-se amarelas. A amostra de manipueira é colocada em um vidro fechado, fixando-se a tira do papel de ensaio já seca, na tampa do vidro, de modo que fique suspensa livremente acima do material. Em seguida manteve-se o vidro em posição vertical, à temperatura de 30°C a 35°C. e iniciou-se a contagem para observação na mudança de cor do papel. Para determinar a presença de HCN na manipueira, foi observada a mudança de cor do papel, primeiramente da cor amarela para laranja e, posteriormente, para vermelho-tijolo. A intensidade da reação ao teste do papel picrosódico foi classificada em acentuada (mudança para coloração vermelho-tijolo em até 5 minutos), moderada (mudança de coloração para laranja entre 5 a 10 minutos), leve (mudança de coloração para laranja, após 10 minutos até 3 horas) e sem presença de HCN (coloração inalterada) (TOKARNIA et al. 2012). Quanto mais rápido mudar a cor maior será a quantidade do HCN na amostra. O teste foi realizado nos tempos 0, 24 e 48 horas após obtenção da amostra e descanso da manipueira em recipiente de plástico na sombra.

### EXPERIMENTO COM OVINOS

Foram utilizadas seis ovelhas híginas, da raça Santa Inês, com idade média de 3 anos, com peso variando de 38 a 52 kg. Os animais foram mantidos em baias individuais, adaptados ao local e vermifugados com solução oral a base de fosfato de levamisol, receberam ração comercial (Ovinotech Nestlé Purina) em quantidade equivalente a 1% do peso vivo e água *ad libitum*. Antes do experimento os animais foram submetidos a jejum hídrico e alimentar de 12 horas e pesados para determinação da dose a ser ingerida. Os animais foram avaliados quanto a frequência cardíaca, respiratória temperatura retal, movimentos ruminais, 10 minutos antes e 10 minutos depois da administração da manipueira nos dois dias de experimento (0 e 24 horas).

A administração da manipueira foi realizada via sonda esofágica em cada animal durante os tempos 0 e 24 horas após descanso em recipiente plástico aberto, em

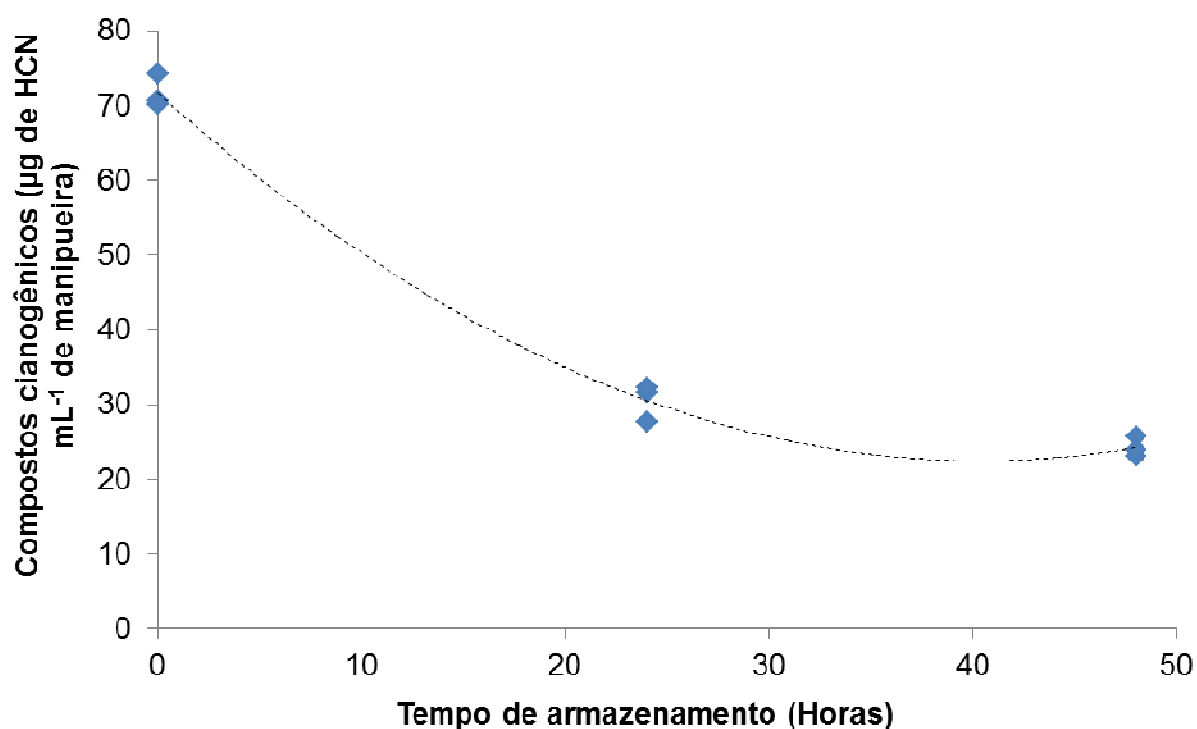
temperatura ambiente e à sombra. As doses foram únicas e administradas uma vez ao dia para cada animal.

No primeiro dia os animais receberam respectivamente doses de 0,99 mg/kg, 0,75 mg/kg, 0,70 mg/kg, 0,63 mg/kg e 0,5 mg/kg e o controle recebeu 0,0 mg/kg de HCN. Após 24 horas, as concentrações administradas para cada animal foram 0,46 mg/kg, 0,34 mg/kg, 0,31 mg/kg, 0,28 mg/kg, 0,23 mg/kg e 0,0 mg/kg de HCN. Nos dois dias foram administradas respectivamente para cada animal doses de manipueira com 14,2 mL/kg, 10,6 mL/kg, 9,8 mL/kg, 8,89 mL/kg e 7,1 mL/kg. O ovino controle recebeu 9,8 mL/kg de água. Após a administração se o animal apresentasse sinal clínico era aplicado uma solução aquosa de tiosulfato de sódio a 20% na dose de 0,5 mL/kg por via endovenosa (AMORIM et al. 2005).

## **RESULTADOS**

A análise quantitativa dos teores de cianeto total da manipueira realizado em triplicata, mostrou grande diminuição a cada dia exposta ao ar livre, atingindo metade da concentração de HCN após 24 horas de descanso na sombra em recipiente aberto em temperatura ambiente (Fig. 3).

**Figura 3** – Avaliação quantitativa, pelo método de reação com cloramian T e isonicotinato 1,3-dimetilbarbiturato com determinação espectrofométrica a 605nm, da perda de toxidez em amostras de manipueira a cada 24 horas.



#### TESTE DO PAPEL PICROSÓDICO

Os resultados do teste do papel picrosódico associados a toxicidade da manipueira em diferentes espaços de tempo de volatilização estão apresentadas na Tabela 2. A volatilização do HCN da manipueira é observada na Figura 4.

**Tabela 2** - Reações do papel picrosódico utilizando manipueira

Tempo após colheita	Horário de realização e registro da reação		
	Início	Coloração	
	Laranja	Vermelho	
0 hora	10:04	10:08 <sup>+++</sup>	10:09 <sup>+++</sup>
24 horas ao ar livre	10:04	10:11 <sup>++</sup>	10:15 <sup>++</sup>
48 horas ao ar livre	10:04	11:10 <sup>+</sup>	-

<sup>+++</sup> : reação acentuada; <sup>++</sup> : reação moderada; <sup>+</sup> : reação leve; - : sem reação.

**Figura 4** - Teste do papel picrossódico utilizando manipueira coletada no primeiro dia de experimento. Observe o frasco direito com papel cor vermelha apresentando reação positiva para presença de HCN após 5 minutos de exposição, na esquerda frasco controle (sem mudança de cor).



#### **EXPERIMENTO COM OVINOS**

Todas as cinco ovelhas, que receberam a dose de HCN no primeiro dia de experimento, desenvolveram quadro clínico compatível com intoxicação aguda por HCN, a ovelha controle não desenvolveu sinal clínico. Os ovinos 2 na dose de 0,75 mg/kg peso vivo HCN, 1 na dose de 0,99 mg/kg peso vivo de HCN e 3 na dose de 0,70 mg/kg peso vivo HCN; desenvolveram sinais clínicos de taquicardia, taquipneia, midríase, hipomotilidade ruminal, sialorreia e narinas dilatadas, timpanismo, tremores musculares, polaciúria, andar cabaleante, decubito lateral, incoordenação motora (Fig. 6). Observe a midríase, salivação e narinas dilatadas (fig. 5)

Os ovinos 4 na dose de 0,63 mg/kg HCN e 5 na dose de 0,5 mg/kg HCN, apresentaram somente taquicardia, taquipneia, discreta salivação. Todos os animais

receberam tiosulfato de sódio a 20% na dose de 0,5 mL/kg de peso vivo e todos recuperaram-se no intervalo de tempo entre 10 a 40 minutos.

No segundo dia de experimento (24 horas após a colheita), somente os ovinos 1 e 2 apresentaram sinais clínicos leves de taquicardia e taquipneia. O animal 3 apresentou tremores musculares leves na região da musculatura pélvica e recuperou-se 40 minutos após aplicação do tiosulfato de sódio a 20%. Os ovinos 4 e 5 não apresentaram sinais clínicos de intoxicação após este período. A ovelha controle não desenvolveu sinal clínico. Dados referentes ao experimento estão representados na Tabela 4. Alterações dos parâmetros fisiológicos de ovinos intoxicados por manipueira antes e depois da administração, no primeiro dia de experimento estão representados na Tabela 5. Já alterações dos parâmetros fisiológicos de ovinos intoxicados por manipueira antes e depois da administração no segundo dia de experimento estão representados na Tabela 6.

**Figura 5-** Ovino 1 no primeiro dia, apresentando sialorreia intensa, narinas dilatadas e midríase, quinze minutos após receber a dose de 0,99 mgHCN/kg peso vivo.



**Figura 6** - Ovino 1 no primeiro dia apresentando marcada dificuldade respiratória, com abertura do quadrilátero de sustentação, dezesseis minutos após receber a dose de 0,99 mgHCN/kg de peso vivo.



Observe na Tabela 3, os valores das doses de HCN por quilograma de peso vivo, administradas em cada animal, no primeiro dia e no segundo dia com a mesma maneira repousada em bacia plástica aberta na sombra.

**Tabela 3** - Relação das doses em mg/kg de peso vivo de HCN em cada animal nos dois dias de experimento.

Ovino	Dose mg/kg HCN peso vivo no primeiro dia	Dose mg/kg HCN peso vivo no segundo dia
1	0,99	0,43
2	0,75	0,34
3	0,70	0,31
4	0,63	0,28
5	0,50	0,23
6 <sup>c</sup>	0,00	0,00

<sup>c</sup>:Ovino controle.

**Tabela 4** - Experimento em ovinos com resíduo de *Manihot esculenta* (manipueira) durante dois dias, com diferentes concentrações mgHCN/kg peso vivo por animal.

Ovino	Peso	Data	Horário da administração	Início dos sinais clínicos	Dose (mgHCN/kgPV)	Total em mL	Sinais clínicos	Adm. tiossulfato de sódio (Horário)	Recuperação (Horário)
1	44 kg	09/12/2014	10:27 h	4 min 03 seg	0,99	624,0	Tremores, salivação, polaciúria, dilatação das narinas, andar cambaleante, taquicardia, taquipneia e hipomotilidade ruminal	10:40 h	11 :20 h
		10/12/2014	10:20 h	9 min	0,43	624,0	Leve taquicardia, taquipneia com tremores musculares	10:35 h	10:55 h
2	38 kg	09/12/2014	10:59 h	4 min 30 seg	0,75	403,0	Tremores, salivação, polaciúria dilatação das narinas, andar cambaleante, taquicardia, taquipneia e hipomotilidade ruminal e decúbito lateral	11:17 h	11:31 h
		10/12/2014	11:00 h	10 min	0,34	403,0	Leve taquicardia e taquipneia	11:21 h	11:38 h
3	52kg	09/12/2014	09:40 h	6 min	0,70	509,6	Tremores, salivação, polaciúria, andar cambaleante, dilatação das narinas, taquicardia e taquipneia, hipomotilidade ruminal	09:55 h	10: 20 h
		10/12/2014	09:42 h	0	0,31	509,6	Ausentes	10:00 h	10:00 h
4	48 kg	09/12/2014	11:28 h	5 min	0,63	427,0	Dilatação das narinas, discreta salivação taquicardia e taquipneia	11:46 h	12: 00 h
		10/12/2014	11:30 h	0	0,28	427,0	Ausente	11:40 h	11:40 h
5	40kg	09/12/2014	10:00 h	5 min	0,50	284,0	Dilatação das narinas, discreta salivação, taquicardia e taquipneia	10:20 h	10: 40 h
		10/12/2014	10:00 h	0	0,23	284,0	Ausentes	10:20 h	10:20 h
6 <sup>c</sup>	51kg	09 /12/2014	12:15 h	0	Água	500,0	Ausentes	0	0
		10 /12/2014	12:15 h	0	Água	500,0	Ausentes	0	0

**Tabela 5** - Alteração dos parâmetros fisiológicos de ovinos intoxicados por manipueira antes e depois da administração no primeiro dia de experimento.

Ovino/Peso	Frequência Cardíaca Antes / Depois	Frequência Respiratória Antes / Depois	Movimentos ruminais a cada 2 minutos Antes / Depois	Temperatura retal (°C) Antes / Depois
1/44kg	78 / 100	31 / 90	1 / 0	39,2 / 38,6
2/38kg	80 / 180	21 / 61	1 / 1	38,6 / 38,3
3/52kg	52 / 130	25 / 70	2 / 0	38,3 / 38,1
4/48kg	67 / 137	30 / 70	2 / 0	38,3 / 38,5
5/40kg	90 / 160	22 / 50	2 / 0	39,2 / 38,7
6 <sup>c</sup> /31kg	63 / 75	13 / 15	1 / 1	39,1 / 39,2

<sup>c</sup>:Ovino controle.

**Tabela 6** - Alteração dos parâmetros fisiológicos de ovinos intoxicados por manipueira antes e depois da administração no segundo dia de experimento.

Ovino/Peso	Frequência Cardíaca Antes / Depois	Frequência Respiratória Antes / Depois	Movimentos ruminais a cada 2 minutos Antes / Depois	Temperatura retal (°C) Antes / Depois
1/44kg	88 / 99	32 / 32	1 / 1	38,7 / 38,9
2/38kg	123 / 127	27 / 30	1 / 1	39,6 / 39,5
3/52kg	78 / 80	32 / 30	2 / 1	39,1 / 38,9
4/48kg	70 / 77	26 / 34	2 / 2	39,0 / 39,4
5/40kg	80 / 64	36 / 23	3 / 2	38,7 / 38,8
6 <sup>c</sup> /31kg	63 / 75	15 / 14	1 / 1	39,1 / 39,3

<sup>c</sup>:Ovino controle.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os resultados deste trabalho demonstram que o resíduo de *M. esculenta* Crantz conhecido como manipueira apresentou toxicidade durante dois dias quando exposta em temperatura ambiente. Na experimentação em ovinos, o aparecimento dos sinais clínicos de intoxicação surgiram em poucos minutos após a administração da manipueira. De acordo com pesquisas, altas concentrações de cianeto podem causar a morte do animal em poucos minutos com sinais clínicos de convulsões, atonia ruminal, nistagmo e parada respiratória (SOTO-BLANCO & GÓRNIK, 2010).

Isso acontece devido o íon cianeto (CN<sup>-</sup>) reagir com o Fe<sup>3+</sup> da citocromo oxidase formando um complexo estável, na qual a cadeia de transporte de elétrons para e a



respiração celular se detém, causando anóxia, como resultado, a hemoglobina (Hb) não pode liberar mais oxigênio para que entre ao sistema de transporte elétrico das células, pois o tecido estará com uma alta pressão de oxigênio (GONZÁLES & SILVA, 2006).

A manipueira mostrou-se tóxica para ovinos quando ingeridas no intervalo de 1 hora entre a coleta na casa de farinha até a administração aos animais. Porém, 24 horas após a colheita, com o mesmo volume e a concentração de HCN reduzida pela metade, os animais não apresentaram sinais clínicos significativos.

Almeida et al. (2009), avaliando o ganho de peso em ovinos, na qual forneceram manipueira com doses desde 400ml a 1000ml/dia, durante 70 dias, e os animais não apresentaram nenhum grau de intoxicação, sendo que essa manipueira utilizada descansou em toneis abertos e à sombra durante 15 dias. No presente trabalho ficou evidente através da análise quantitativa dos teores de cianeto total da manipueira, que há diminuição a cada dia exposição ao ar livre, atingindo metade da concentração de HCN após 24 horas e decaindo para menos de  $\frac{1}{4}$  de concentração de HCN, após 48 horas de descanso na sombra em recipiente aberto em temperatura ambiente.

Amorim et al. (2005), utilizando doses tóxicas de folhas frescas, murchas e dessecadas de *Manihot glaziovii* em caprinos na proporção de 5,3 a 12 g/kg peso vivo, entretanto este dado é referente a quantidade de folhas frescas sem a mensuração da concentração de HCN. Esse trabalho difere da presente pesquisa, a qual utilizou a (manipueira) com as mensurações exatas em miligramas de HCN por quilograma de peso vivo utilizando a espécie ovina.

Do mesmo modo, Amorim et al. (2004) em experimento com seis amostras de *M. glaziovii* procedentes de diferentes municípios da Paraíba, Nordeste do Brasil, obtiveram intoxicação em bovinos com 10g/kg de folhas, com apresentação dos primeiros sinais clínicos 20 minutos após administração da planta. Isso evidencia nesse trabalho que animais intoxicados por manipueira apresentaram sinais clínicos em menos tempo, se comparados com intoxicação por plantas cianogênicas. Provavelmente a manipueira por se apresentar em meio líquido, os glicosídeos cianogênicos já se encontra difundidos no meio e seriam mais facilmente absorvidos pelo organismo, ao contrário das folhas de *Manihot* spp, que ainda seriam digeridas e quebradas no rumem do animal, por isso o tempo de apresentação dos sinais clínicos da manipueira seriam mais agudos comparados com as folhas da planta.

Isto também é evidenciado pelo feito de que redução efetiva do nível de composto cianogênico ocorre, na ralação ou trituração, que permite que a ruptura das células libere a linamarase, enzima que cliva a linamarina formando o HCN livre; na torração da massa de raízes raladas há inativação dos resíduos de cianeto livre (COGNON et al. 2002).

Por hidrólise enzimática durante a raspagem e ralagem da mandioca, no manuseio da massa ralada o cianeto produzido, volatiliza-se constantemente, potencializando efeito tóxico da mesma, o que explica as pessoas sofrerem episódios de síncope ao manusear a massa triturada, inalando pequenas quantidades de cianeto volatilizado, como foi descrito neste trabalho.

No presente experimento os animais apresentaram sinais clínicos caracterizados principalmente por salivação, taquipneia, taquicardia, tremores musculares, andar cambaleante, dilatação das narinas e hipomotilidade ruminal e decúbito lateral sinais clínicos semelhantes a outros trabalhos realizados com plantas cianogênicas (RIET-CORREA et al. 2011, TOKARNIA et al. 2012).

Os resultados do teste do papel picrossódico associado a toxicidade da manipueira em diferentes espaços de tempo de volatilização mostraram-se eficientes na constatação da presença de HCN na manipueira, contudo Tokarnia et al. (2012) relatam que o teste do papel picrossódico pode apresentar variações nas reações a depender da quantidade de HCN que está sendo liberado pela planta, onde reações mais lentas podem representar graus menores de toxidez nas plantas.

É importante salientar que os glicosídeos cianogênicos são solúveis em água, liberando mais ácido cianídrico quando misturados pela mesma (AMORIM, et al. 2006), isto explicaria o por que da manipueira ser mais tóxica e reagir rapidamente ao teste do papel picrossódico. Quanto mais rápido mudar a cor maior será a quantidade de cianeto (RIET-CORREA et al. 2011). No presente trabalho pode-se evidenciar que a alta toxicidade da manipueira esteve associada com a rapidez em que ocorreu a reação do papel para vermelho tijolo. Como demonstrado anteriormente, o teste do papel picrossódico mostrou-se eficiente na observação de HCN, o que sugere também, que este teste poderá ser utilizado para determinar a toxicidade da manipueira, quando a mesma for administrada aos animais como alimento ou utilizada para outros fins como produção de adubos orgânico (FERREIRA et al.2001).

O tratamento dos animais intoxicados por manipueira, na dosagem de 0,5 mL/kg PV de tiosulfato de sódio a 20% foi eficaz, promoveu a recuperação dos animais entre 10 a 40 minutos após aplicação por via intravenosa nos dois dias de experimento. O tratamento deve levar a quebrar a união entre o  $\text{CN}^-$  e o  $\text{Fe}^{3+}$  da citocromo oxidase, onde o nitrito de sódio provoca a formação de metemoglobina (MetHb), a qual concorre com a citocromo oxidase pelo íon  $\text{CN}^-$  para formar ciano-MetHb, onde a MetHb tem maior afinidade pelo  $\text{CN}^-$  que a citocromo oxidase. Nesse tratamento, o tiosulfato reage com o íon cianeto (com a enzima rodanase) para formar tiocianeto, que é excretado pela urina (GONZÁLEZ & SILVA, 2006).

Trabalhos semelhantes com intoxicação experimental por plantas cianogênicas obtiveram resultados positivos quanto ao tratamento em caprinos e bovinos intoxicados por *M. glaziovii* (SOTO-BLANCO et al. 2005, TOKARNIA et al. 2012). Porém a aplicação deve ser feita nos primeiros instantes da intoxicação, pois rapidamente se estabelece, a intoxicação e isto inviabiliza seu uso rotineiro à campo, sendo que na maioria dos casos os animais já são encontrados mortos. (RIET-CORREA et al. 2011).

Deve-se realizar o diagnóstico diferencial para outras plantas tóxicas que acometem animais de produção, especialmente as cianogênicas, dentre estas estão a *Anadenanthera colubrina* var. *cebil*, *Piptadenia viridiflora*, *Cnidoscolus quercifolius* e *Sorghum halepense*. Também para plantas que causam falha cardíaca aguda associada ao exercício como *Palicourea aeneofusca*, *P. marcgravii*, *Amorimia rigida* e *A. elegans* (RIET-CORREA et al. 2011). Tokarnia et al. (2012) cita que estas plantas estão presentes em todo Nordeste brasileiro.

O descuido ou desconhecimento dos produtores do potencial tóxico da manipueira contribuem com as intoxicações.

A associação dos sinais clínicos evidenciados no experimento, o rápido surgimento destes após ingestão, além da confirmação da presença de HCN pelo teste picrossódico e sua quantificação confirmaram a toxicidade da manipueira para a espécie ovina, a resposta ao tratamento com antídoto se mostrou muito eficaz, quando administrada nos primeiros 15 minutos após os primeiros sinais clínicos de intoxicação.

Mediante análises dos procedimentos experimentais em ovinos a partir dos relatos obtidos em entrevistas com produtores de farinha, sobre possíveis causas de intoxicação por manipueira, na região do recôncavo da Bahia, conclui-se que a

manipueira subproduto de *M. esculenta* possui quantidade suficiente de HCN capaz de intoxicá-los a partir de 0,34 mg/kg de peso vivo, na concentração de 0,007mgHCN/mL de manipueira, ou seja um animal pesando 40 kg precisaria ingerir 284 mL de manipueira para se intoxicar. Portanto, devido a esta alta toxicidade para os ovinos, é importante informar aos produtores de farinha tomarem os devidos cuidados quanto ao descarte correto da manipueira no meio ambiente, cercando as áreas e impedindo o consumo do resíduo pelos animais, evitando prejuízos.

*Agradecimentos.- Os autores agradecem ao INCT pelo apoio financeiro, para o controle das intoxicações por plantas/CNPq (Proc. nº. 573534/2008-0).*

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S.R.M.; SILVA, A.M.; LIMA, J.P.; ALMEIDA, A.M.M.; ZACHARIAS, F. & REGIS, U.O. Avaliação do potencial nutritivo da manipueira na dieta de ovinos deslanados. In: VI Congresso Brasileiro de Agroecologia, II congresso Latino Americano de Agroecologia, **Anais... 2009**.

AMORIM, S.L.; MEDEIROS, R.M.T.; RIET-CORREA, F. & OLIVEIRA, A.C.P. Intoxicação experimental com plantas cianogênicas em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.24 , p.5-6, 2004.

AMORIM S.L.; MEDEIROS R.M.T. & RIET-CORREA F. Intoxicação experimental por *Manihot glaziovii* (Euphobiaceae) em caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.25, p.179-187,2005.

AMORIM, S.L.; MEDEIROS, R.M.T. & RIET-CORREA, F. Intoxicações por plantas cianogênicas no Brasil. **Ciência Animal**. v.16, p.17-26, 2006.

- COOKE, R.D. An enzymatic assay for the total cyanide content of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.29, p.345-352. 1979.
- COGNON J.R.; CEREDA M.P. & PANTAROTTO S. Série: Culturas de tuberosas amiláceas latino-americanas, **Fundação Cargill**, 2002.
- CEREDA M.P. 2001. Caracterização dos subprodutos da industrialização da mandioca, **Fundação Cargill**, p.13-37, 2001.
- CEREDA M.P. 2003. Processamento da mandioca como mecanismo de detoxificação, **Fundação Cargill**, p.47-81, 2003.
- CEREDA M.P. 2009. Situação atual dos resíduos nas indústrias de mandioca. In: XIII Congresso Brasileiro de Mandioca, Botucatu. **Anais...** Botucatu, SP.
- ESSERS, A.J.A. Further improving the enzymic assay for cyanogens in cassava products. **Acta Horticultura**. v.375, p97-104, 1994.
- GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. Introdução à bioquímica clínica veterinária. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.357, 2006.
- MONTAGNAC, J.C.; DAVIS, C.R. & TANUMIHARDJO, S.A. A processing techniques to reduce toxicity and antinutrients of cassava for use as a staple food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v.8, p.17-27, 2009.
- OLIVEIRA, L.A, Manual de laboratório, análises físico químicas de frutas e mandioca, Cruz das Almas: 1º ed, **Emprapa mandioca e fruticultura**, 258p, 2010.
- PINHEIRO, E.E.G.; OLIVEIRA, R.S.; SILVA, R.M.M.; SANTOS, M.C.; MACÊDO, J.T.S.A. & PEDROSO, P.M.O. 2013. Plantas tóxicas para animais de produção no

Recôncavo da Bahia. In: Anais do XL Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, **Anais...**Salvador, BA.

RIET-CORREA, F.; BEZERRA, C.W.C. & MEDEIROS, R.M.T. 2011. Plantas tóxicas do Nordeste. **Sociedade Vicente Palloti**, 82p, 2011.

SOTO-BLANCO, B & GÓRNIK, S.L. Toxic effects of prolonged administration of leaves of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) to goats. **Experimental and Toxicologic Pathology**. v.62, p.361-366, 2010.

TOKARNIA, C.H.; BRITO, M.F.; BARBOSA, J.D.; PEIXOTO, P.V. & DÖBEREINER J. Plantas tóxicas do Brasil para animais de produção. Editora Helianthus, Rio de Janeiro, p.443-459, 2012.

## Anexo 2



REVISTA BRASILEIRA DE SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL  
*Brazilian Journal of Animal Health and Production*  
[www.rbspa.ufba.br](http://www.rbspa.ufba.br) [www.periodicos.capes.gov.br](http://www.periodicos.capes.gov.br)  
[www.scielo.br/revistas/rbspa/pinstruc.htm](http://www.scielo.br/revistas/rbspa/pinstruc.htm)  
 71 32836725 [rbspa@ufba.br](mailto:rbspa@ufba.br)

## NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA BRASILEIRA DE SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL – RBSPA

### ORIENTAÇÕES GERAIS:

O periódico RBSPA é uma publicação eletrônica, com acesso e envio de artigos exclusivamente pela Internet ([www.rbspa.ufba.br](http://www.rbspa.ufba.br)). Editado na Universidade Federal da Bahia, destina-se a publicação de artigos de pesquisas científicas originais nas seguintes seções: Agronegócio; Forragicultura e pastagens; Medicina veterinária preventiva; Melhoramento genético animal; Morfofisiologia animal; Nutrição animal; Patologia e clínicas; Produção animal e ambiente; Recursos pesqueiros/aqüicultura; e Reprodução animal. **Revisões de literatura abrangendo assuntos nas mesmas seções, eventualmente são avaliadas, exclusivamente, por convite do Conselho Editorial.**

Os artigos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Conselho Editorial, com assessoria de especialistas da área (revisores *ad hoc*). Os pareceres têm caráter imparcial e sigilo absoluto, tanto da parte dos autores como dos revisores, sem identificação entre eles. Os artigos, cujos textos necessitam de revisões ou correções, são devolvidos aos autores e, se aceitos para publicação, passam a ser de propriedade da RBSPA. Os conceitos, informações e conclusões constantes dos trabalhos são de exclusiva responsabilidade dos autores.

Os manuscritos devem ser redigidos na forma impessoal, espaço entre linhas duplo (exceto nas tabelas e figuras), fonte Times New Roman tamanho 12, em folha branca formato A4 (21,0 X 29,7 cm), com margens de três cm, páginas numeradas seqüencialmente em algarismos arábicos, não excedendo a 20, incluindo tabelas e figuras (inclusive para artigos de revisão). As páginas devem apresentar linhas numeradas. A numeração é feita da seguinte forma: menu arquivo/ configurar página/ layout/ números de linha../ numerar linhas).

Não utilizar abreviações não-consagradas e acrônimos, tais como: "o T2 foi menor que o T4, e não diferiu do T3 e do T5". Quando se usa tal redação dificulta-se o entendimento do leitor e a fluidez do texto. Evite siglas desnecessárias em todo o texto.

**Citações no texto:** são mencionadas com a finalidade de esclarecer ou completar as idéias do autor, ilustrando e sustentando afirmações. Toda documentação consultada deve ser obrigatoriamente citada em decorrência aos direitos autorais. As citações de autores no texto são em letras minúsculas, seguidas do ano de publicação. Quando houver dois autores, usar & (e comercial) e, no caso de três ou mais autores, citar apenas o sobrenome do primeiro, seguido de et al.

(não-italico). Menciona-se a data da publicação que deverá vir citada entre parênteses, logo após o nome do autor. As citações feitas no final do parágrafo devem vir entre parênteses e separadas por ponto e vírgula, em ordem cronológica. O artigo não deve possuir referências bibliográficas oriundas de publicações em eventos técnico-científicos (anais de congressos, simpósios, seminários e similares), bem como teses, dissertações e publicações na internet (que não fazem parte de periódicos científicos). Deve-se, então, privilegiar artigos publicados em periódicos com corpo editorial (observar orientações percentuais e cronológicas no último parágrafo do item "Referências").

Citação de citação (apud): não é aceita.

**Língua:** Os artigos submetidos poderão ser na língua Portuguesa, Inglesa ou Espanhola. **Entretanto, se aceitos para publicação será obrigatória a tradução para o inglês com apresentação do certificado de tradução por empresas credenciadas pela RIBSPA. As despesas de tradução serão por conta dos autores.**

Os artigos enviados para a revista até setembro/2015 que estão em tramitação poderão ser publicados em português, entretanto, se traduzidos para o inglês terão prioridade na publicação.

Todos os artigos, após o aceite deverão estar acompanhados (como documento suplementar) do comprovante de tradução ou correção de um dos seguintes tradutores:

[American Journal Experts](#)

[Editage](#)

[Elsevier](#)

<http://www.proof-reading-service.com>

<http://www.academic-editing-services.com/>

<http://www.publicise.com.br/formulacio.asp>

**Tabela:** deve ser mencionada no texto como Tabela (por extenso) e refere-se ao conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. São construídas apenas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e ao final da tabela. A legenda recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico (Ex.: Tabela 1. Ganho médio diário de ovinos alimentados com fontes de lipídeos na dieta). O título da tabela deve ser formatado de maneira que, a partir da segunda linha, o texto se inicie abaixo da primeira letra do título e não da palavra Tabela. Ao final do título não deve conter ponto final. Não são aceitos quadros.

**Figura:** deve ser mencionada no texto como Figura (por extenso) e refere-se a qualquer ilustração constituída ou que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema etc. Os desenhos, gráficos e similares devem ser feitos com tinta preta, com alta nitidez. As fotografias, no tamanho de 10 x 15 cm devem ser nítidas e de alto contraste. As legendas recebem inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico (Ex.: Figura 1. Produção de leite de vacas Gir sob estresse térmico nos anos de 2005 e 2006). Chama-se a atenção para as proporções entre letras, números e dimensões totais da figura: caso haja necessidade de redução, esses elementos também são reduzidos e correm o risco de ficar ilegíveis. O título da figura deve ser formatado de maneira que a partir da segunda linha o texto se inicie abaixo da primeira letra do título e não da palavra Figura. Igualmente, ao final do título não deve conter ponto final. Tanto as tabelas quanto as figuras devem vir o mais próximo possível, após sua chamada no texto.

#### TIPOS E ESTRUTURA DE ARTIGOS PARA PUBLICAÇÃO:

1) Artigos científicos: devem ser divididos nas seguintes seções: título, título em inglês, autoria, resumo, palavras-chave, summary, keywords,



introdução, material e métodos, resultados e discussão, agradecimentos (opcional) e referências;

2) **Artigos de revisão:** devem conter: título, título em inglês, autoria, resumo, palavras-chave, summary, keywords, introdução, desenvolvimento, conclusões, agradecimentos (opcional) e referências.

Os títulos de cada seção devem ser digitados em negrito, justificados à esquerda e em letra maiúscula.

**Título:** Em português (negrito) e em inglês (italico), digitados somente com a primeira letra da sentença em maiúscula e centralizados. Devem ser concisos e indicar o conteúdo do trabalho. Evitar termos não significativos como "estado", "exame", "análise", "efeito", "influência", "avaliação" etc. Não ultrapassar 20 termos.

**Autores:** A nomenclatura dos autores deve vir logo abaixo do título em inglês. Digitar o último sobrenome em maiúsculo, seguido pelos pré-nomes (com apenas a primeira letra maiúscula) também por extenso e completo, separados por vírgula e centralizados (Ex.: OLIVEIRA, João Marques de). A cada autor deverá ser atribuído um número arábico sobrescrito ao final do sobrenome, que servirá para identificar as informações referentes a ele. Logo abaixo dos nomes dos autores, deverá vir justificada a esquerda e em ordem crescente a numeração correspondente, seguida pela afiliação do autor: Instituição; Unidade; Departamento; Cidade; Estado e País. Deve estar indicado o autor para correspondência com o respectivo endereço eletrônico.

**Resumo e Summary:** Devem conter entre 200 e 250 palavras cada um, em um só parágrafo. Não repetir o título. Cada frase deve ser uma informação e não apresentar citações. Deve se iniciar pelos objetivos, breve metodologia, apresentar os resultados seguidos pelas conclusões. Toda e qualquer sigla deve

vir precedida da explicação por extenso. Ao submeter artigos em outra língua, deve constar o resumo em português.

**Palavras-chave e keywords:** Entre três e cinco, devem vir em ordem alfabética, separadas por vírgulas, sem ponto final, com informações que permitam a compreensão e a indexação do trabalho.

Não são aceitas palavras-chave que já constem do título.

**Introdução:** Deve conter no máximo 2.500 caracteres com espaços. Explanação de forma clara e objetiva do problema investigado, sua pertinência, relevância e, ao final, os objetivos com a realização do trabalho.

**Material e Métodos:** (exceto para artigos de revisão): Não são aceitos subtítulos. Devem apresentar seqüência lógica da descrição do local, do período de realização da pesquisa, dos tratamentos, dos materiais e das técnicas utilizadas, bem como da estatística utilizada na análise dos dados. Técnicas e procedimentos de rotina devem ser apenas referenciados. Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente deve apresentar parecer de aprovação pelo Comitê de Ética e Biossegurança da instituição.

**Resultados e Discussão** (exceto para artigos de revisão): Os resultados podem ser apresentados como um elemento do texto ou juntamente com a discussão, em texto corrido ou mediante ilustrações. Interpretar os resultados no trabalho de forma consistente e evitar comparações desnecessárias. Comparações, quando pertinentes, devem ser discutidas e feitas de forma a facilitar a compreensão do leitor. As conclusões são obrigatórias, devem ser apresentadas ao final da discussão e não como item independente. Não devem ser repetição dos resultados e devem responder aos objetivos expressos no artigo. **Desenvolvimento** (exclusivo para artigos de revisão): Deve ser escrita de forma crítica, apresentando a evolução do

conhecimento, as lacunas existentes e o estado atual da arte com base no referencial teórico disponível na literatura consultada.

**Agradecimentos:** Devem ser escritos em itálico e o uso é opcional.

**Referências:** Devem ser relacionadas em ordem alfabética pelo sobrenome e contemplar todas aquelas citadas no texto. Menciona-se o último sobrenome em maiúsculo, seguido de vírgula e as iniciais abreviadas por pontos, sem espaços. Os autores devem ser separados por ponto e vírgula. Digita-las em espaço simples, com alinhamento justificado a esquerda. As referências devem ser separadas entre si (a separação deve seguir o caminho parágrafo/espacamento e selecione: depois seis pontos). O recurso tipográfico utilizado para destacar o elemento título será negrito e, para os nomes científicos, itálico. São adotadas as normas ABNT-NBR-6023 - agosto de 2002.

No mínimo 70% das referências devem ser de artigos publicados nos últimos dez anos. Não serão permitidas referências de **livros, anais, internet, teses, dissertações, monografias**, exceto que seja justificada a sua inserção no artigo e desde que não exceda 30% do total.

#### ORIENTAÇÃO E EXEMPLO PARA REFERÊNCIA:

**Periódicos:** Os títulos dos periódicos devem ser mencionados sem abreviações e em negrito. Não é necessário citar o local, somente o volume, o número, o intervalo de páginas e o ano.

MELO, T.V.; FURLAN, R.L.; MILANI, A.P.; BUZANSKAS, M.E.; MOURA, A.M.A. de; MOTA, D.A. Roof pitch and exposure and different roofing materials in reduced models of animal production facilities in the fall and winter. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal** [online], v.16, n.3, p.658-666, 2015.

#### INFORMAÇÕES ADICIONAIS

A RBSPA adota como padrão de atribuição de acesso aberto dos artigos a licença CC-BY.

#### O QUE ENVIAR PARA A REVISTA:

Os trabalhos para publicação são enviados exclusivamente por meio eletrônico pelo endereço [www.rbspa.ufba.br](http://www.rbspa.ufba.br). Serão considerados viáveis para publicação apenas os artigos cujos autores cumprirem todas as etapas a seguir, enviando:

1. Um arquivo com o texto do artigo no campo de submissão de artigos ([www.rbspa.ufba.br](http://www.rbspa.ufba.br)) com as ilustrações (se houver) em P/B.

2. Formulário de Encaminhamento de Artigo, preenchido e enviado pelo e-mail do autor responsável ([http://www.rbspa.ufba.br/forms/form\\_encam\\_artigo.doc](http://www.rbspa.ufba.br/forms/form_encam_artigo.doc)).

3. Comprovante de pagamento da taxa de encaminhamento do artigo (**etapa inicial do processo**) no valor de R\$ 50,00 (cinquenta reais) via fax ou escaneado.

É indispensável apresentação deste comprovante juntamente ao Formulário de Encaminhamento devidamente preenchido para que o artigo siga tramitação.

4. Comprovante de pagamento da taxa de publicação (**etapa conclusiva do processo**) via fax ou escaneado.

**Taxa de publicação:** quando da aprovação (prelo) serão orientados ao pagamento da Guia de Recolhimento da União (GRU), no valor de R\$220,00. (duzentos e vinte reais).

#### INFORMAÇÕES PARA CONTATO:

Telefone: (71) 32836725

Fax: (71) 32836718

E-mail: [rbspa@ufba.br](mailto:rbspa@ufba.br)

Site: [www.rbspa.ufba.br](http://www.rbspa.ufba.br)