

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

**INTOXICAÇÃO AGUDA ESPONTÂNEA E
EXPERIMENTAL POR SAMAMBAIA (*Pteridium
aquilinum*) EM BOVINOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Bruno Leite dos Anjos

Santa Maria, RS, Brasil

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**INTOXICAÇÃO AGUDA ESPONTÂNEA E EXPERIMENTAL
POR SAMAMBAIA (*Pteridium aquilinum*) EM BOVINOS**

por

Bruno Leite dos Anjos

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia Veterinária, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária

Orientador: Prof. Luiz Francisco Irigoyen

Santa Maria, RS, Brasil

2009

A599i Anjos, Bruno Leite dos, 1983-
Intoxicação aguda espontânea e experimental por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos / por Bruno Leite dos Anjos ; orientador Luiz Francisco Irigoyen. - Santa Maria, 2009.
71 f. ; il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, RS, 2009.

1. Medicina veterinária 2. Bovinos 3. Doenças de bovinos 4. Planta tóxica 5. *Pteridium aquilinum* 6. Samambaia 7. Distúrbio de hemostasia 8. Aplasia de medula óssea 9. Patologia veterinária I. Irigoyen, Luiz Francisco, orient. II. Título

CDU: 619:636.2

Ficha catalográfica elaborada por
Luiz Marchiotti Fernandes – CRB 10/1160
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Rurais/UFSM

© 2009

Todos os direitos autorais reservados a Bruno Leite dos Anjos. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita com autorização por escrito do autor.

Endereço: Av. Roraima, 1000, Hospital Veterinário Universitário, Laboratório de Patologia Veterinária, Prédio 49, Bairro Camobi, Santa Maria, RS, 97105-900 1, Fone (55) 3220-8168; Fax (55) 3220- 8284; End. Eletr: anjosje@yahoo.com.br

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

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

**INTOXICAÇÃO AGUDA ESPONTÂNEA E EXPERIMENTAL POR
SAMAMBAIA (*Pteridium aquilinum*) EM BOVINOS**

elaborada por
Bruno Leite dos Anjos

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

Comissão Examinadora:

Luiz Francisco Irigoyen, PhD
(Presidente/Orientador)

Aldo Gava, Dr. (UDESC)
(Examinador)

Claudio S. L. Barros, PhD (UFSM)
(Examinador)

Santa Maria, 13 de fevereiro de 2009.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a minha família por todo amor, dedicação e confiança a mim transmitidos.

Agradeço infinitamente a toda equipe que convivi e que convivo no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria, que me ensinou muito e me acolheu como a um filho. Tenho por todos um enorme apreço!

Aos professores Chico e Claudio, serei sempre grato pela oportunidade que me deram e por terem acreditado no meu trabalho. Um agradecimento especial aos amigos Eduardo, Drica e Elisa, com quem dividi sala, pela amizade e presteza, bem como pela paciência que nunca os abandonou; e a Aline (Chica), minha namorada, pela dedicação e apoio que sempre teve. Agradeço também, aos meus professores Flávio e Riet por todo incentivo e auxílio ao longo de minha vida acadêmica.

A todos vocês, muito obrigado!

RESUMO

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

INTOXICAÇÃO AGUDA ESPONTÂNEA E EXPERIMENTAL POR SAMAMBAIA (*Pteridium aquilinum*) EM BOVINOS

AUTOR: BRUNO LEITE DOS ANJOS
ORIENTADOR: LUIZ FRANCISCO IRIGOYEN
Local de Data da Defesa: Santa Maria, 13 de fevereiro de 2009.

Foram estudados a epidemiologia, a patogênese, os aspectos clínicos e patológicos da intoxicação aguda, espontânea e experimental, por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos. Dois trabalhos científicos que resultaram desse estudo são aqui apresentados e discutidos. Inicialmente, foram revisados 6.256 laudos de necropsia de bovinos num período de 43 anos (1964-2006). Desses, 15 casos corresponderam a quadros de intoxicação aguda causada pela ingestão de *P. aquilinum* e os casos ocorreram em bovinos de pequenas propriedades rurais da Região Central do Rio Grande do Sul. Em 40% das propriedades a doença ocorreu em pequenos surtos e em 60% delas apenas um bovino era afetado por propriedade. As taxas médias de morbidade e mortalidade foram de 17,9% e a letalidade foi virtualmente 100%. A intoxicação foi produzida experimentalmente em quatro bovinos e foi demonstrado que apenas eventos da hemostasia primária devidos a trombocitopenia são responsáveis pelas hemorragias. A hemocultura de três dos bovinos intoxicados produziu crescimentos de *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus hyicus* e *S. aureus*, indicando que a septicemia, facilitada pela neutropenia, pode ter participação na causa da morte de bovinos na intoxicação aguda pela ingestão de *P. aquilinum*.

Palavras-chave: Doenças de bovinos; plantas tóxicas; samambaia; *Pteridium aquilinum*; distúrbios da hemostasia; aplasia de medula óssea; patologia.

ABSTRACT

Master's Dissertation
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria

SPONTANEOUS AND EXPERIMENTAL ACUTE POISONING BY BRACKEN FERN (*Pteridium aquilinum*) IN CATTLE

AUTHOR: BRUNO LEITE DOS ANJOS

ADVISER: LUIZ FRANCISCO IRIGOYEN

Local and date of presentation: Santa Maria, February 13, 2009.

The epidemiology, pathogenesis, clinical and pathological aspects of the spontaneous and experimental poisoning of cattle by bracken fern (*Pteridium aquilinum*) were studied. Two scientific papers that stemmed from these studies are presented and discussed here. Initially, 6,256 necropsy reports from cattle necropsied during a 43-year-period (1964-2006) were reviewed. Of those, 15 cases were consistent with acute poisoning caused by the ingestion of *P. aquilinum* and they occurred in cattle from small farms in the Central region of the State of Rio Grande do Sul, Brazil. In 40% of the farms the disease occurred in small outbreaks affecting several cattle per farm and in 60% only one bovine was affected in each farm. Morbidity and mortality were 17.9% and lethality was virtually 100%. The poisoning was experimentally produced in four calves; it was concluded that exclusively the events of the primary hemostasis due to thrombocytopenia are responsible for the hemorrhages. Blood culture from three affected calves yield the growth of *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus hyicus* and *S. aureus*, indicating that septicemia, facilitated by neutropenia could have a role in the death of cattle acutely poisoned due to the ingestion of *P. aquilinum*.

Key-Words: Diseases of cattle; poisonous plants; bracken fern; *Pteridium aquilinum*; disturbances of hemostasis; bone marrow aplasia; pathology.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	8
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	10
3 TRABALHO 1.....	16
4 TRABALHO 2.....	24
5 DISCUSSÃO.....	62
6 CONCLUSÕES.....	64
REFERÊNCIAS.....	65

1 INTRODUÇÃO

Samambaia (*Pteridium aquilinum*) é uma planta tóxica encontrada em vários países, onde afeta bovinos e outras espécies. No Sul do Brasil, sua ocorrência é relatada com frequência nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. A ingestão de doses diárias altas por períodos relativamente curtos produz em bovinos uma doença aguda caracterizada por febre alta e diversos graus de hemorragia decorrentes de acentuada aplasia da medula óssea, e conseqüente trombocitopenia, induzida pelos princípios ativos da planta. A ingestão de quantidades menores de samambaia por períodos mais prolongados induz em bovinos, duas manifestações crônicas caracterizadas por neoplasmas no trato digestivo superior e/ou na bexiga. Na forma crônica digestiva os bovinos podem apresentar disfagia, timpanismo e emagrecimento em conseqüência dos tumores que se localizam na base da língua, no esôfago e na entrada do rúmen. A segunda forma é caracterizada por sangramento de tumores vesicais e conhecida como hematúria enzoótica bovina. Estudos da prevalência dessas duas formas crônicas na Mesorregião Centro Ocidental Rio-Grandense foram realizados anteriormente (SOUTO et al., 2006a,b; MASUDA, 2007; GABRIEL, 2008)

Essa dissertação resultou da necessidade de determinarmos a prevalência da forma hemorrágica aguda da intoxicação por samambaia. Para isso foram revisados casos de intoxicação por samambaia em bovinos de 10 pequenas propriedade rurais de sete municípios da Região Central do Rio Grande do Sul. O estudo abrangeu 6.256 necropsias realizadas num período de 43 anos, dentre as quais 15 necropsias de bovinos que morreram em conseqüência da intoxicação aguda por samambaia. Os resultados dessa pesquisa encontram-se no primeiro trabalho anexado a essa dissertação (Anjos B.L., Irigoyen L.F., Figuera R.A., Gomes A.D., Kommers G.D & Barros C.S.L. 2008. Intoxicação aguda por samambaia [*Pteridium aquilinum*] em bovinos na Região Central do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 28:501-507).

Achados clínicos e patológicos encontrados no estudo retrospectivo acima mencionado levantaram certas dúvidas quanto à patogênese da intoxicação aguda, especificamente: (1) qual intensidade da trombocitopenia em diferentes momentos da doença e sua relação com possíveis déficits na hemostasia secundária; (2) qual a relação da neutropenia com os infartos sépticos ocasionalmente observados na necropsia; e (3) quais os mecanismo da anemia e sua relação com a perda de sangue, a meia-vida eritróide e a evolução da doença. Para responder a essas questões

foi delineado um experimento para reprodução da intoxicação aguda por samambaia em bovinos. Os resultados constam de um segundo trabalho anexado a essa dissertação (Anjos B.L., Irigoyen L.F., Piazer J.V.M., Brum J.S., Figuera R.A. & Barros C.S.L. 2009. Intoxicação experimental aguda por samambaia [*Pteridium aquilinum*] em bovinos. *Pesq. Vet.. Bras.* 29 [no prelo]).

2 REVISÃO DE LITERATURA

A intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos foi relatada inicialmente no final do século XIX na Inglaterra, como uma doença aguda caracterizada por febre alta, hemorragias e letalidade elevada (PENBERTHY, 1893; STORRAR, 1893). Nessa oportunidade, a associação entre a ingestão de samambaia e o desenvolvimento da doença, embora suspeitada, não foi definitivamente estabelecida; no entanto, no ano seguinte, um editorial do periódico inglês *Journal of Comparative Pathology*, confirmava a existência dessa enfermidade e afirmava que ela havia sido experimentalmente reproduzida em bovinos pela administração de samambaia (ANÔNIMO, 1984). A doença foi reproduzida subsequentemente em bovinos pela administração de quantidades consideráveis da planta por períodos prolongados (STOCKMAN, 1917, 1922). Nos anos seguintes evidências derivadas de casos espontâneos e da reprodução experimental robusteceram a conclusão de que a samambaia era causa de diátese hemorrágica em bovinos (CRAIG; KEHOE, 1925; HAGAN; ZEISSIG, 1927; CRAIG; DAVIES, 1940; SHEARER, 1945; STAMP, 1947; EVANS et al., 1954a,b,c; NAFTALIN; CUSHNIE, 1954a,b). Uma doença idêntica fora observada no outono, no triênio 1917-1919 (BOSSHART; HAGAN, 1920) e novamente no outono de 1920 (HAGAN, 1922) no estado de Nova York, EUA. Provavelmente a dificuldade de comunicação científica na época, impediu a associação desses casos com a doença descrita na Grã-Bretanha, já com etiologia esclarecida (PENBERTHY, 1893; STORRAR, 1893; STOCKMAN, 1917, 1922). Evidências epidemiológicas e a comparação da doença dos bovinos dos EUA com o que era descrito nos trabalhos britânicos que tratavam da intoxicação aguda por samambaia em bovinos (STORRAR, 1893; STOCKMAN, 1917) levaram pesquisadores americanos a suspeitar de que samambaia estivesse também implicada como causa nos casos dos EUA, o que levou à reprodução da doença também neste país (HAGAN; ZEISSIG, 1927). Desde então a doença tem sido relatada em vários outros países (TUSTIN et al., 1968). No Brasil, a intoxicação por samambaia é descrita em vários estados, especialmente nas regiões Sul e Sudeste, onde a forma aguda da intoxicação é relatada como causa freqüente de morte em bovinos (TOKARNIA et al., 1967; BASILE et al., 1981; BARROS et al., 1987; BENESI et al., 1990; GAVA et al., 2002; MARÇAL et al., 2002; MARÇAL, 2003; RISSI et al., 2007; BORELLI et al., 2008; MARTINI-SANTOS et al., 2008). No Rio Grande do Sul, a intoxicação por *P. aquilinum* é a segunda causa mais freqüente de morte

de bovinos (12%) provocada por plantas tóxicas (RISSI et al., 2007). Em Santa Catarina, cerca de 43% das mortes provocadas por plantas foram decorrentes de ingestão de samambaia (GAVA et al., 2002).

P. aquilinum é uma planta invasora da família Polypodiaceae, caracterizada morfológicamente pela formação de rizomas e por possuir folhas compostas e bipinadas. Apenas a variedade *arachnoideum* é encontrada no Brasil (FREITAS et al., 1999; TOKARNIA et al., 2002). A samambaia é uma planta cosmopolita e ocorre com maior frequência em regiões chuvosas, de solo ácido, arenoso e com alta capacidade de drenagem. É comumente vista também em áreas de encostas de morros e campos pouco manejados e matas ciliares, no entanto, apresenta grande adaptação em outras áreas (FENWICK, 1988; FREITAS et al., 1999).

Sua atividade radiomimética acumulativa está associada a um glicosídeo norsesquiterpeno (ptaquilosídeo) (KITARARA et al., 1974; HIRONO et al., 1984). A ação da tiaminase na doença dos ruminantes ainda é bastante discutida, mas pouco aceita (VALLI, 2007). Todas as porções da planta são tóxicas e o princípio tóxico se mantém ativo mesmo após a fenação, no entanto, o broto e as porções mais verdes da planta são mais tóxicos (FENWICK, 1988). O poder tóxico da planta pode variar conforme a distribuição geográfica (HIRONO et al., 1972). Sugere-se que os rizomas correspondem a estruturas subterrâneas de armazenamento de nutrientes e concentram maior quantidade do ptaquilosídeo; quando ingeridos podem provocar a morte mais rapidamente (HIRONO et al., 1972). Como a samambaia é pouco palatável, a fome e a escassez de alimentos ricos em fibras favorecem sua ingestão que, uma vez iniciada, pode desenvolver o vício nos bovinos (SIPPEL, 1952; TOKARNIA et al., 1967).

Os ruminantes são mais comumente intoxicados. Ovinos desenvolvem quadro de degeneração progressiva da retina e é descrito que eqüinos e suínos apresentam sinais neurológicos em decorrência de lesões encefálicas promovidas pela deficiência de tiamina causada por uma tiaminase contida na planta (FENWICK, 1988). No entanto, a ocorrência da doença em eqüinos e suas características não estão ainda bem esclarecidas. Nos bovinos a ingestão de *P. aquilinum* causa três formas distintas da doença; duas formas crônicas, que ocorrem quando os bovinos ingerem doses menores que 10 g/kg de peso corporal da planta diariamente e por longos períodos (DÖBEREINER et al., 1967; TOKARNIA et al., 1969; BARROS et al., 1987; GAVA et al., 2002; SOUTO et al., 2006a) e uma forma aguda que se desenvolve quando os animais ingerem quantidades maiores da planta por períodos mais curtos (EVANS et al., 1954b; NAFTALIN; CUSHNIE, 1954b; KITAHARA, 1974).

Uma das formas crônicas é conhecida como hematúria enzoótica pelos bovinos apresentarem sangue na urina associado a lesões neoplásicas e não-neoplásicas na bexiga por ação carcinogênica e mutagênica do ptaquilosídeo (CAMPO et al., 1992; GABRIEL, 2008) e acomete principalmente bovinos com idade superior a 2 anos. Os sinais clínicos dessa forma da intoxicação são hematúria intermitente, anemia, perda de peso e morte (DÖBEREINER et al. 1967; PEIXOTO et al., 2003; SOUTO et al., 2006b). A outra forma crônica é caracterizada pelo desenvolvimento de carcinomas do trato digestivo superior de bovinos com mais de cinco anos. Os neoplasmas são observados com maior freqüência na base da língua, na faringe, no esôfago e no rúmen (SOUZA; GRAÇA, 1993; GAVA et al., 2002; SOUTO et al., 2006a). Os sinais clínicos variam conforme o local e a extensão das lesões e incluem principalmente tosse, emagrecimento progressivo, regurgitação, disfagia, halitose e timpanismo (GAVA et al., 2002; SOUTO et al., 2006a). Nesses casos, além da ação do ptaquilosídeo, também é sugerida a ação do papilomavírus para desenvolvimento dos neoplasmas (JARRETT, 1978; CAMPO et al., 2002). Nos ovinos são observados mais comumente neoplasmas intestinais (EVANS, 1968).

A intoxicação aguda acomete principalmente os bovinos adultos, com idade média de 2 anos (FENWICK, 1988). O mesmo quadro clínico já foi descrito em ovinos, embora esses sejam mais resistentes que os bovinos (PARKER et al., 1965; SUNDERMAN, 1987). Intoxicação aguda por *P. aquilinum* ocorre predominantemente em épocas de escassez de forragem em forma de surtos ou casos isolados, predominantemente entre os meses de novembro e maio, com baixa freqüência e alto índice de mortalidade e letalidade (BARROS et al., 1987, TOKARNIA et al., 2002; BORELLI et al., 2008). É descrito que os bovinos necessitam ingerir doses diárias entre 10-30 g/kg de peso corporal por períodos entre 4-8 semanas; é mencionado que o ovino apresentaria os sinais clínicos da doença quando ingerisse quantidades da planta próximas ao seu peso corporal (EVANS et al., 1954b; NAFTALIN; CUSHNIE, 1954b). A ação do ptaquilosídeo causa danos irreversíveis de aplasia do tecido mielóide com diminuição acentuada dos níveis de plaquetas e leucócitos, além do aumento da fragilidade vascular, isso resulta em distúrbios graves da hemostasia (EVANS et al., 1964; VALLI, 2007).

Os sinais clínicos podem iniciar três semanas após o início da ingestão da planta e consistem em febre acentuada, que pode variar entre 39°C-42°C, e hemorragias. Segundo alguns autores, esse é um dos primeiros sinais clínicos observados e dificilmente outra doença irá causar febre tão acentuada quanto à observada em bovinos intoxicados por samambaia (STORRAR, 1893; HAGAN et al., 1925). Entretanto, alguns animais em estágios avançados da doença podem

apresentar diminuição da temperatura (STOCKMAN, 1917; EVANS et al., 1954a). A septicemia como causa da febre alta em bovinos intoxicados por samambaia permanece ainda em discussão e é atribuída ao déficit leucocitário desenvolvido nos bovinos intoxicados. Alguns autores não fizeram correlação do quadro febril com a bacteremia (EVANS et al., 1954a; EVANS, 1964), enquanto outros (NAFTALIN; CUSHNIE, 1954b) correlacionaram o aumento da temperatura com a sepse em bovinos intoxicados experimentalmente.

Observa-se sangramento contínuo na pele após perfurações; petéquias e equimoses ocorrem nas conjuntivas oculares, na mucosa vulvar e vaginal, na cavidade oral e na mucosa das narinas. Em alguns casos pode haver ulceração na mucosa das narinas. Além disso, pode ser visto diarreia sanguinolenta e fétida ou com coágulos ou sangue digerido e urina com sangue (BOSSHART; HAGAN, 1920; GLESSON, 1944; FRANÇA et al., 2002). Com a evolução do quadro clínico, os animais desenvolvem apatia, sialorréia, com descarga nasal seromucosa ou sanguinolenta, estertores respiratórios semelhantes a roncos, decúbito e morte. Na maioria das vezes os bovinos morrem entre 3-10 dias após o início dos sinais clínicos (GLESSON, 1944; OSEBOLD, 1951; TOKARNIA et al., 1967; RIET-CORREA; MENDEZ, 2007), embora, com menor frequência, o curso clínico possa variar entre 4-10 horas (GLESSON, 1944; OSEBOLD, 1951) e casos de recuperação sejam raros (CARPENTER et al., 1950; EVANS et al., 1954a; TOKARNIA et al., 1967).

Baseados nos sinais clínicos, são propostos dois tipos de manifestação clínica para a forma aguda da intoxicação por samambaia em bovinos. (1) o tipo entérico, mais freqüente, caracteriza-se principalmente por sinais clínicos de depressão, perda do apetite, febre alta e pulso fraco. Além de enterite com coágulos de sangue e cheiro pútrido, palidez da conjuntiva e sangramento das membranas mucosas dos olhos, nariz, vagina e ânus e 2) o tipo laríngeo caracterizado por febre alta, ronco, dificuldade em respirar e edema de laringe e tecidos adjacentes (FLETCHER, 1944; SIPPEL, 1952; EVANS et al., 1954a).

Os exames de sangue revelam tempo de sangramento prolongado, com trombocitopenia e neutropenia acentuadas (SIPPEL, 1952; TOKARNIA et al., 1967; BARROS et al., 1987). Embora a neutropenia seja acentuada, o número total de leucócitos apresenta apenas uma leve diminuição, em razão dos valores absolutos de linfócitos que permanecem normais (FIGHERA, 2001; VALLI, 2007). Nos bovinos, além dos linfócitos representarem o dobro do número de neutrófilos circulantes, estes apresentam também uma meia-vida superior, permanecendo na circulação por mais tempo que os neutrófilos. Em bovinos em estágio avançado da doença, esses

fatores mantêm o número absoluto de linfócitos normal e os valores relativos aumentados, o que pode causar uma falsa impressão de linfocitose. Os bovinos também podem apresentar anemia arregenerativa normocítica normocrômica, que na maior parte dos casos é leve (FELDMAN et al., 2000; THRALL, 2007; VALLI, 2007).

As lesões de necropsia consistem de graus variáveis de hemorragia em diversos órgãos e tecidos. Externamente os animais podem apresentar petéquias e equimoses na pele e discretas áreas de hemorragias em locais perfurados por agulhas, arames e picadas de insetos. As hemorragias no tecido subcutâneo são pronunciadas e localizadas com maior frequência em locais de contato com o solo quando os bovinos se deitam e na pele em contato mais íntimo com extremidades ósseas. Na cavidade abdominal, o peritônio parietal e visceral pode apresentar áreas de hemorragias ao longo de pequenos e grandes vasos sanguíneos, e hemoperitônio (OSEBOLD, 1951; TOKARNIA et al., 1967; BARROS et al., 1987; VALLI, 2007). Todo o trato digestivo pode apresentar petéquias a sufusões. O intestino delgado é um dos órgãos que apresenta maior quantidade de hemorragias. A mucosa intestinal pode estar congesta e apresentar áreas multifocais de hemorragias, úlceras e coágulos sanguíneos aderidos na mucosa ou livres em meio ao conteúdo intestinal. A gordura perirenal esta frequentemente hemorrágica, assim como a parede dos ureteres e da bexiga (TOKARNIA et al., 1967; TUSTIN et al., 1968; BARROS et al., 1987).

Histologicamente, a principal lesão é a aplasia de medula óssea com diminuição acentuada ou ausência de células de série megacariocítica, leucocítica e eritrocítica com dilatação de sinusóides medulares (EVANS et al., 1954a,b; NAFTALIN; CUSHNIE, 1954b). São observadas também hemorragias em variados tecidos, além de edema, hiperemia, enterite fibrinonecrótica e hemorrágica no intestino delgado e edema na parede do abomaso podem ser observados (BARROS et al., 1987; VALLI, 2007). Focos de necrose de coagulação no parênquima hepático associados a miríades de bacilos e trombos sépticos. Infartos renais e esplênicos também são descritos (OSEBOLD, 1951; EVANS et al., 1954b; TOKARNIA et al., 1967).

A intoxicação aguda por *P. aquilinum* em bovinos deve ser diferenciada de doenças que cursam com hemorragia e infartos hepáticos. Devem ser incluídos doenças como anaplasnose, mannheimiose pneumônica, pasteurelose septicêmica, leptospirose, intoxicação por trevo-doce, hemoglobinúria bacilar (SIPPEL, 1952) e intoxicação por derivados cumarínicos (BRITO et al., 2005) e intoxicação por polpa cítrica (GAVA; BARROS, 2007) Uma doença hemorrágica

descrita em bovinos causada pela ingestão de *Cheilanthes sieberi* (rock fern), também provoca a aplasia de medula óssea (CLAY, 1969; CLARK; DIMMOCK, 1971). Embora pouco mencionado, o tratamento de casos de intoxicação aguda por samambaia em bovinos por transfusão sanguínea e sulfato de protamina, que atua contra a ação anticoagulante da heparina, foi descrito como significativamente eficaz (TUSTIN et al., 1968).

3 TRABALHO 1

INTOXICAÇÃO AGUDA POR SAMAMBAIA (*Pteridium aquilinum*) EM BOVINOS NA REGIÃO CENTRAL DO RIO GRANDE DO SUL

Bruno L. Anjos, Luiz Francisco Irigoyen, Rafael A. Figuera, Aline D. Gomes,
Glaucia D. Kommers e Claudio S. L. Barros

PUBLICADO EM V.28 (10), P.501-507

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos na Região Central do Rio Grande do Sul¹

Bruno L. Anjos², Luiz F. Irigoyen³, Rafael A. Figuera³, Aline D. Gomes⁴,
Glaucia D. Kommers³ e Claudio S.L. Barros^{3*}

ABSTRACT.- Anjos B.L., Irigoyen L.F., Figuera R.A., Gomes A.D., Kommers G.D & Barros C.S.L. 2008. [Acute poisoning by bracken fern (*Pteridium aquilinum*) in cattle in central Rio Grande do Sul, Brazil.] Intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos na Região Central do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 28(10):501-507. Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil. E-mail: claudioslbarros@uol.com.br

Cases of acute poisoning by bracken fern (*Pteridium aquilinum*) in cattle from 10 small farms of seven municipalities of the Central Region of Rio Grande do Sul State, Brazil, were reviewed. The study encompassed 6,256 necropsies of cattle considering a 43-year period and included 15 necropsies of cattle dying from acute bracken poisoning. Morbidity and mortality were 17.9% and lethality was virtually 100%. In 40% of the farms the disease occurred in small outbreaks affecting several cattle per farm and in 60% only one bovine was affected in each farm. Main clinical signs include fever (40-42°C), apathy, drooling, and hemorrhages; the latter were mainly from the gums, nostrils, and gastrointestinal tract. Multiple petechiae were observed in several mucosae and in the skin. Occasionally hematuria and blood in the milk were reported. The disease was invariably fatal after a course of approximately two days. Hematological changes included severe neutropenia, non-regenerative normocytic normochromic anemia and thrombocytopenia. Necropsy findings include hemorrhages of varying degrees in several organs and infarcts in the liver. Both hemorrhages and hepatic infarcts were confirmed histologically; clusters of bacterial rods and thrombosed vessels were associated with the infarcts. Marked bone marrow aplasia was a consistent finding in the four cases in which the marrow was evaluated.

INDEX TERMS: Diseases of cattle, poisonous plants, *Pteridium aquilinum*, bracken fern, hemorrhagic disorders, pathology.

RESUMO.- Foram revisados casos de intoxicação por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos de 10 pequenas propriedades rurais de sete municípios da Região Central do Rio Grande do Sul. O estudo abrangeu 6.256

necropsias de bovinos realizadas num período de 43 anos e incluiu 15 necropsias de bovinos que morreram em consequência da intoxicação aguda por samambaia. As taxas de morbidade e mortalidade foram 17,9% e a letalidade era virtualmente de 100%. Em 40% das propriedades a doença ocorreu em pequenos surtos afetando vários bovinos; em 60% das propriedades apenas um bovino era afetado. Os principais sinais clínicos incluíam febre (40-42°C), apatia, salivação e hemorragias, principalmente pelas gengivas, pela cavidade nasal e pelo trato gastrointestinal. Múltiplas petéquias eram observadas nas mucosas e na pele. Ocasionalmente observou-se hematuria e sangue no leite. A doença era invariavelmente fatal após um curso clínico de dois dias. Alterações hematológicas consistiam de leucopenia por neutropenia, anemia normocítica normocrômica e trombocitopenia arregenerativa. Os achados de

¹ Recebido em 16 de maio de 2008.

Aceito para publicação em 5 de junho de 2008.

Parte da dissertação de Mestrado do primeiro autor. Financiada integralmente pelo Grant de Pesquisador I-A do CNPq (Proc.307876/2006-3).

² Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Patologia Veterinária, Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS 97105-900, Brasil.

³ Departamento de Patologia, UFSM, Santa Maria, RS. *Pesquisador I-A do CNPq (Proc.307876/2006-3) e autor para correspondência: claudioslbarros@uol.com.br

⁴ Bolsista de iniciação do PIBIC/UFSM, Santa Maria, RS.

necropsia incluíam hemorragias de intensidade variável em vários órgãos e infartos no fígado. Tanto as hemorragias quanto os infartos foram confirmados histologicamente; agregados de bacilos e vasos trombosados foram observados em associação com os infartos. Aplasia da medula óssea era um achado consistente nos quatro casos em que esse órgão foi examinado.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Doenças de bovinos, plantas tóxicas, *Pteridium aquilinum*, samambaia, distúrbios hemorrágicos, patologia.

INTRODUÇÃO

A ingestão de samambaia (*Pteridium aquilinum*) produz três formas de intoxicação em bovinos, duas crônicas caracterizadas por neoplasmas no trato digestivo superior (Döbereiner et al. 1967, Tokarnia et al. 1969, Souto et al. 2006a) ou na bexiga (Döbereiner et al. 1967, Tokarnia et al. 1969, Souto et al. 2006b) e uma aguda caracterizada por hemorragias (Tokarnia et al. 1967, Barros et al. 1987). A intoxicação por samambaia é a segunda causa mais importante de intoxicação por plantas na Região Central do Rio Grande do Sul, correspondendo a 12% de todas as mortes de bovinos causadas por plantas tóxicas (Rissi et al. 2007).

A intoxicação por samambaia em bovinos foi relatada inicialmente no final do século XIX na Inglaterra, como uma doença aguda caracterizada por febre alta, hemorragias e letalidade elevada (Storrar 1893, Penberthy 1893). Nessa oportunidade, a associação entre a ingestão de samambaia e o desenvolvimento da doença, embora suspeitada, não foi definitivamente estabelecida; no entanto, no ano seguinte, um editorial publicado no periódico inglês *Journal of Comparative Pathology* (Anôn. 1884) confirmava a existência dessa enfermidade e afirmava que ela havia sido experimentalmente reproduzida em bovinos pela administração de samambaia. A doença foi reproduzida subsequente em bovinos pela administração de quantidades consideráveis da planta por períodos prolongados (Stockman 1917, 1922). Nos anos seguintes evidências derivadas de casos espontâneos e da reprodução experimental robusteceram a conclusão de que samambaia era causa de diátese hemorrágica em bovinos (Craig & Kehoe 1925, Craig & Davies 1940, Hagan & Zeissig 1927, Shearer 1945, Stamp 1947, Evans et al. 1954a,b,c).

Uma doença idêntica fora observada no outono, no triênio 1917-1919 (Bosshart & Hagan 1920) e novamente no outono de 1920 (Hagan 1922) no estado de Nova York, EUA. Provavelmente a dificuldade de comunicação científica na época, impediu a associação desses casos com a doença descrita na Grã-Bretanha, já com etiologia esclarecida (Storrar 1893, Penberthy 1893, Stockman 1917, 1922). Evidências epidemiológicas e a comparação da doença dos bovinos dos EUA com o que era descrito nos trabalhos britânicos que tratavam da intoxicação aguda por samambaia em bovinos (Storrar 1893, Stockman 1917) levaram pesquisadores americanos a

suspeitar de que samambaia estivesse também implicada como causa nos casos do EUA, o que levou à reprodução da doença também naquele país (Hagan & Zeissig 1927). Desde então a doença tem sido relatada de vários outros países (Tustin et al. 1968). No Brasil, a intoxicação aguda foi descrita em vários estados (Tokarnia et al. 1967, Basile et al. 1981, Barros et al. 1987, Benesi et al. 1990, Marçal et al. 2002, Marçal 2003).

O objetivo deste trabalho é descrever a epidemiologia, os sinais clínicos, a hematologia e a patologia da intoxicação aguda por samambaia em bovinos na Região Central do Rio Grande do Sul, diagnosticada pelo Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) de 1964-2006.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram revisados os protocolos de necropsias realizadas em bovinos no LPV/UFSM e materiais de necropsia de bovinos encaminhados para exame histopatológico por veterinários de campo, num período de 43 anos (1964-2006). Casos com diagnóstico confirmado de intoxicação aguda por *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn foram selecionados e seus aspectos epidemiológicos, clínicos, hematológicos, de necropsia e histopatológicos foram anotados. Os casos avaliados eram oriundos de surtos da doença ou haviam sido anotados como casos individuais. Cada surto ou caso individual ocorrido em uma propriedade era anotado como um caso da intoxicação e identificado por município em ordem cronológica de ocorrência. Casos provenientes de outras regiões não foram incluídos no estudo.

RESULTADOS

Epidemiologia

Foram revisados 6.256 protocolos de necropsias de bovinos realizadas em 43 anos (1964-2006). Desse total, 20,3% (1.271) eram necropsias realizadas pela equipe do LPV/UFSM e 79,7% (4.985) eram necropsias realizadas por veterinários de campo da Região Central do Rio Grande do Sul e que enviaram material ao LPV para diagnóstico histopatológico. Dessas 6.256 necropsias, 795 (12,7%) foram confirmadas como intoxicação por plantas. Os casos de intoxicação aguda por samambaia ocorreram em sete municípios da Região Central do Rio Grande do Sul (Fig.1), afetaram 10 propriedades e causaram a morte de 37 bovinos, dos quais 15 foram necropsiados. Os dados da população total sob risco (n=179) obtidos de cinco propriedades onde 32 bovinos morreram indicam uma morbidade média de 17,9% (Quadro 1). O índice de mortalidade era igual ao de morbidade, pois a letalidade era virtualmente de 100%. Em seis propriedades a doença foi relatada em casos individuais e nas outras quatro em forma de surtos com morbidades de 12,5%, 15%, 21,2% e 21,5% (Quadro 1).

Grande quantidade de samambaia (Fig.2) era observada em sete das propriedades estudadas (1, 3-6, 8 e 9). Nessas propriedades, todos os bovinos tinham acesso à planta e 34 deles morreram. Nas demais propriedades (2,

Quadro 1. Casos de bovinos com intoxicação espontânea aguda por *Pteridium aquilinum* diagnosticada na Região Central do Rio Grande do Sul

(Nº da Propriedade) e município de ocorrência	Período da ocorrência	Forma da ocorrência	Bovinos		
			Bovinos sob risco	Mortos	Necropsiados
(1) Nova Palma	Mar/1973	I ^a	NI ^b	1	1
(2) Silveira Martins	Abr/1978	I	NI	1	1
(3) São Pedro do Sul	Nov/1984	I	NI	1	1
(4) São João do Polésine ^c	Set-out/1986	S ^d	40	6	4
(5) Silveira Martins	Nov/1988	S	14	3	1
(6) Nova Palma	Jun/1990	I	5	1	1
(7) Jaguari	Dez/1990	I	NI	1	1
(8) Nova Palma	Abr/2001	S	40	5	1
(9) Faxinal do Saturno	Mai/2002	I	NI	1	1
(10) Santa Maria	Out/2003	S	80	17	3

^a Caso isolado, ^b dado não informado, ^c dados publicados anteriormente (Barros et al. 1987), ^d surto.

7 e 10), esse dado não estava disponível. Apenas um bovino da Propriedade 4 foi submetido a eutanásia, todos os outros tiveram morte espontânea. A faixa etária mais afetada era de 2-3 anos. A intoxicação ocorreu em todas as

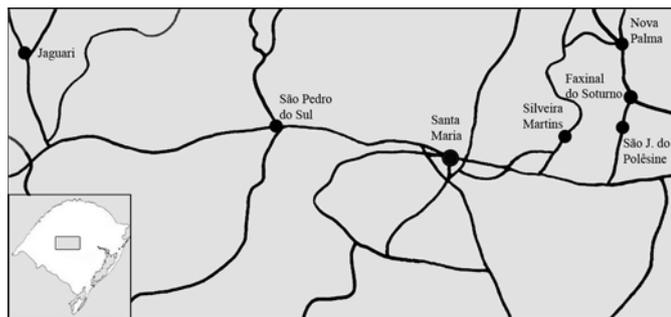


Fig.1. Municípios onde estão localizadas as propriedades rurais em que ocorreram os casos de intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos. No detalhe, o mapa do Rio Grande do Sul indicando no retângulo a área onde se localizam os municípios considerados no estudo. O município de Santa Maria está assinalado apenas como referência.



Fig.2. Espécime de samambaia (*Pteridium aquilinum*) fotografado na Propriedade 7 em Jaguari, Rio Grande do Sul.

estações do ano; no entanto, a maior parte dos casos (cinco) ocorreu entre setembro e dezembro, isto é, primavera e início de verão. Todos os bovinos afetados estavam em campo nativo.

Sinais clínicos

Os sinais clínicos foram semelhantes em todos os casos observados e incluíam febre (40-42°C), apatia, andar cambaleante, salivação, epistaxe (Fig.3), gengivorragia, ulcerações nas narinas, palidez das mucosas, petéquias multifocais na pele e nas mucosas ocular, oral e vulvar. Quando observadas na pele, as hemorragias eram vistas no dorso, na forma de pêlos aglutinados por sangue. Frequentemente as fezes eram fétidas, enegrecidas e continham grande quantidade de sangue (Fig.4). Sangue na urina e, com menor frequência, no leite foi também relatado. Com o agravamento do quadro, ocorria taquicardia, taquipnéia e, ocasionalmente, icterícia leve. O quadro clínico culminava com decúbito esternal e morte em até dois dias após a observação dos primeiros sinais clínicos. Em apenas um bovino foi realizada a eutanásia.



Fig.3. Bovino da Propriedade 9 com epistaxe na intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*)

Quadro 2. Valores hematológicos de bovinos com intoxicação espontânea aguda por *Pteridium aquilinum*

Bovinos	Eritrograma					Leucograma					Plaquetograma
	Erit ^a	Hb ^b	Ht ^c	VCM ^d	CHCM ^e	Leuc ^f	Neu ^g	Linf ^h	Mon ⁱ	Eos ^j	Plaquet ^k
Valores de referência	5,0-10,0	8,0-15,0	24-46	40-60	30-36	4.000-12.000	600-4.000 (15-45%)	2.500-7.500 (45-75%)	25-840 (2-7%)	0-2.400 (0-20%)	100.000-800.000
(4) São João do Polésine*	1,2	2,1	7	58,3	30,0	2.000	160 (8%)	1.780 (89%)	40 (2%)	20 (1%)	20.000
(4) São João do Polésine*	5,1	10,5	30	58,8	35,0	4.100	-	3.977 (97%)	123 (3%)	--	58.000
(8) Nova Palma	3,2	6,0	19	59,4	31,6	3.100	124 (4%)	2.945 (95%)	31 (1%)	--	28.000
(9) Faxinal do Soturno	3,7	5,3	17	45,9	31,2	3.300	330 (10%)	2.937 (89%)	33 (1%)	--	29.000
(10) Santa Maria**	5,1	8,3	24	47,1	34,6	3.600	396 (11%)	3.168 (88%)	--	36 (1%)	38.000
(10) Santa Maria**	6,2	9,1	28	45,2	32,5	3.900	234 (6%)	3.627 (93%)	39 (1%)	--	45.000
(10) Santa Maria**	2,3	4,5	13	56,5	34,6	3.500	420 (12%)	3.045 (87%)	--	35 (1%)	32.000

^aEritrócitos ($\times 10^6/\text{mm}^3$), ^bhemoglobina (g/dl), ^chematócrito (%), ^dvolume corpuscular médio (fentolitros), ^econcentração de hemoglobina corpuscular média (%), ^fleucócitos ($/\text{mm}^3$), ^gneutrófilos ($/\text{mm}^3$), ^hlinfócitos ($/\text{mm}^3$), ⁱmonócitos, ^jeosinófilos ($/\text{mm}^3$), ^kplaquetas ($/\text{mm}^3$), * e ** bovinos do mesmo surto.

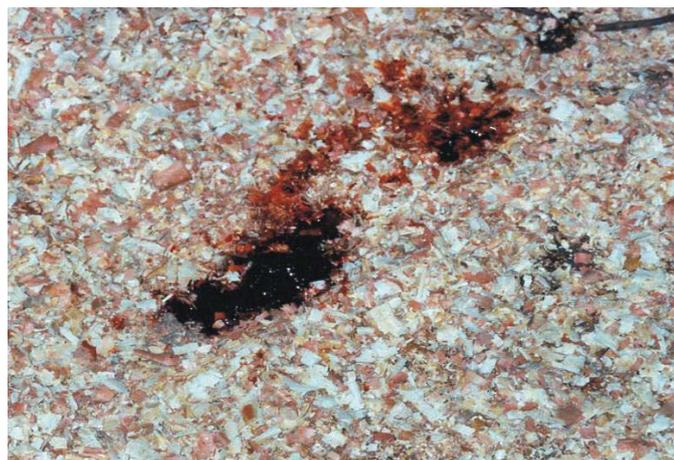


Fig. 4. A serragem que forra o piso da baia onde estava o bovino da Propriedade 9 afetado pela intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) mostra fezes com grande quantidade de sangue.

Achados hematológicos

Sete bovinos de quatro propriedades diferentes (4, 8-10) foram avaliados quanto aos parâmetros hematológicos. Os valores do eritrograma, leucograma e plaquetograma, referentes a cada bovino avaliado estão representados no Quadro 2. Dos sete bovinos, seis apresentaram leucopenia; nesses seis casos, o número total de leucócitos variou entre 2.000 e 3.900/ mm^3 de sangue. No diferencial leucocitário, todos os sete bovinos apresentaram neutropenia; os neutrófilos oscilaram entre 0 e 420/ mm^3 de sangue (0-12%). Quatro bovinos apresentavam anemia caracterizada por hematócrito (7-19%), contagem de eritrócitos (1,2-3,7 $\times 10^6/\text{mm}^3$ de sangue) e nível de hemoglobina (2,1-6,0g/dl) abaixo dos valores normais. Nesses quatro casos, o volume corpuscular médio e a concentração de hemoglobina corpuscular média oscila-

ram entre 45,9 e 59,4 fentolitros e 30,0% e 34,6%, respectivamente, caracterizando uma anemia normocítica normocrômica (Fig.5). Todos os sete bovinos apresentaram trombocitopenia. O número de plaquetas variou de 20.000 a 58.000/ mm^3 de sangue. A avaliação morfológica demonstrou plaquetas com tamanho e forma normais.

Achados de necropsia

As lesões macroscópicas mais freqüentes eram petéquias e sufusões múltiplas no tecido subcutâneo, predominantemente da região abdominal, ventral e lateral. As mucosas oculares eram pálidas, o sangue era aquoso e havia petéquias na vulva e gengiva e ulcerações nas narinas. Edema e hemorragia nos linfonodos pré-escapulares e mesentéricos eram freqüentes e quantidades variáveis de sangue (até 3 litros) e coágulos livres na

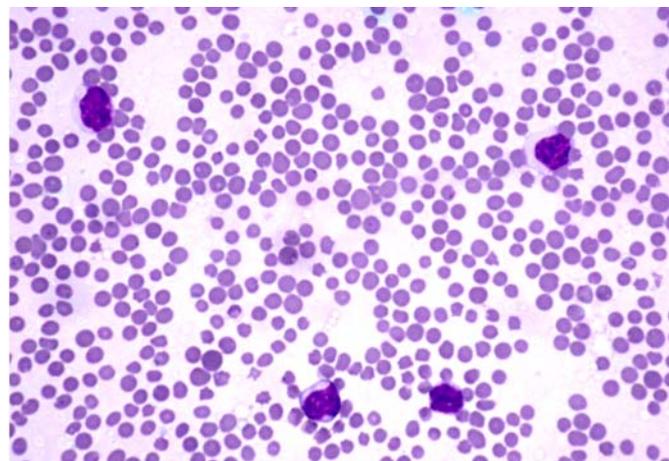


Fig. 5. Esfregaço de sangue em bovino da Propriedade 10 afetado pela intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*). A morfologia eritróide é normal (anemia normocítica normocrômica) e não se observam plaquetas. Panótico, obj.40x.



Fig.6. Serosa do cólon espiral e mesocolo com extensas sufusões em bovino da Propriedade 8 afetado pela intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*).

cavidade abdominal eram observados. Petéquias e sufusões ocorreram na serosa de múltiplos órgãos e no peritônio parietal, em graus variáveis de intensidade e distribuição, mas, especialmente intensas no rúmen, omaso, abomaso, diafragma, vesícula biliar, intestino delgado, ceco e cólon (Fig.6), omento, mesentério e baço. Úlceras na mucosa do abomaso ocorreram ocasionalmente; outros achados ocasionais consistiam de coágulos de sangue misturado a detritos necróticos e fibrina no interior do intestino delgado, aderidos ou não à mucosa intestinal. Na superfície do fígado observaram-se áreas de forma aproximadamente geométrica, de contornos irregulares, mais firmes que o restante do parênquima, pálidas na sua parte central e rodeadas por halo de hemorragia. Essas áreas ocorriam tanto na superfície como no interior do parênquima hepático. Lesões renais consistiam de hemorragias subcapsulares, na gordura perirrenal e áreas de infarto do parênquima. Observavam-se ainda hemorragias laríngeas, traqueais, subpleurais subendocárdicas, subepicárdicas e na pleura parietal. Hemotórax e hemopericárdio eram observados ocasionalmente.

Achados histopatológicos

As hemorragias observadas macroscopicamente eram confirmadas no exame histológico. Em alguns segmentos das alças intestinais as hemorragias localizavam-se logo abaixo da serosa e, em outros, se estendiam da serosa até a mucosa dos órgãos tubulares ou para o interior de órgãos parenquimatosos. Edema, hiperemia, enterite fibrinonecrotica e hemorrágica no intestino delgado e edema na parede do abomaso também foram observados com frequência, assim como múltiplos focos de necrose de coagulação no parênquima hepático associados a agregados de bacilos (Fig.7) e trombos sépticos. Infartos renais e esplênicos causados por trombose séptica foram achados pouco freqüentes. Observavam-se hemorragias no parênquima e superfície capsular das adrenais, baço, medula espinhal e pulmão. As hemorragias observadas no cora-

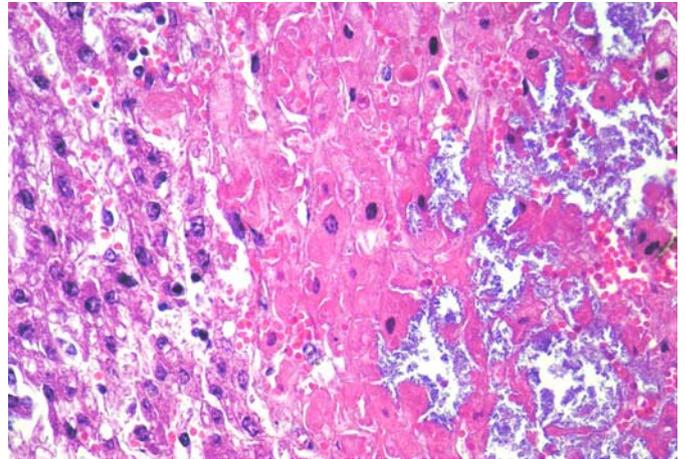


Fig.7. Área de necrose de coagulação hepática com aglomerados de bactérias do bovino da Propriedade 6 afetado pela intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*). HE, obj.40x.

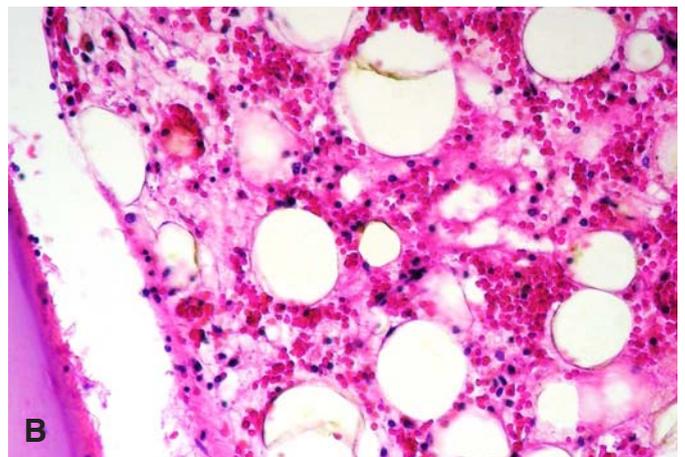
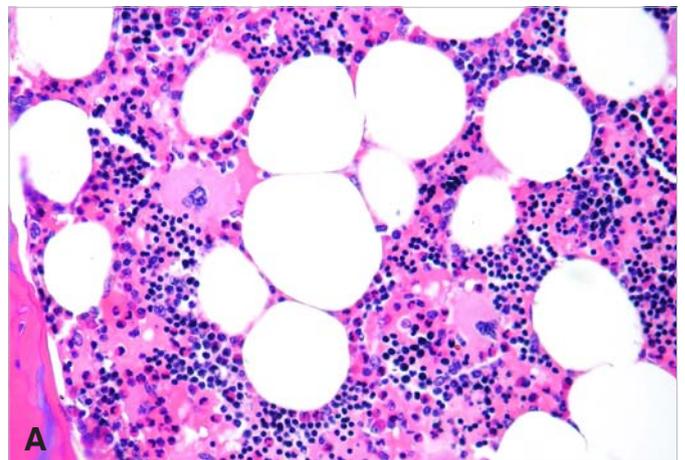


Fig.8. Medula óssea. (A) Bovino Normal. Hematoxilina-eosina, obj.20x. (B) Bovino da Propriedade 8 afetado pela intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*). Há acentuada aplasia da medula óssea. Os sinusóides medulares estão distendidos pela falta de pressão sobre eles normalmente exercida pelos precursores hematopoéticos. HE, obj.20x.

ção eram principalmente subepicárdicas e subendocárdicas. Nos quatro bovinos em que a medula óssea foi avaliada histologicamente havia aplasia caracterizada por substituição da medula óssea ativa por gordura. Os sinusóides medulares estavam conspícuos (Fig.8).

DISCUSSÃO

O diagnóstico de intoxicação aguda por *Pteridium aquilinum* foi baseado nos aspectos epidemiológicos, clínicos, hematológicos e patológicos característicos (Fletcher 1944, McLauchlan 1951, Osebold 1951, Sippel 1952, Evans et al. 1954a,b,c 1961, Tokarnia et al. 1967, Tustin et al. 1968). A doença era caracterizada por febre alta, hemorragias extensas em vários tecidos e órgãos e por neutropenia e trombocitopenia. Clinicamente, bovinos com a forma aguda desenvolvem febre de até 42,3°C. A febre alta parece ser o primeiro sinal clínico da doença (Stockman 1917, Hagan et al. 1925, Boddie 1947, Tokarnia et al. 1967) e, segundo alguns autores (Hagan et al. 1925, Storrar 1893), a intensidade da febre que ocorre na intoxicação por samambaia não ocorre em nenhuma outra doença de bovinos; por outro lado, bovinos afetados num estágio avançado da doença podem apresentar diminuição do quadro febril (Stockman 1917, Evans et al. 1954a).

Dois tipos de manifestação clínica têm sido observados na intoxicação aguda por samambaia em bovinos (Sippel 1952, Fletcher 1944, Evans et al. 1954a): (1) o *tipo entérico*, que é o mais freqüente, caracteriza-se principalmente por sinais clínicos de depressão, perda de apetite, temperaturas elevadas e pulso fraco. São encontrados ainda, enterite, com coágulos de sangue e cheiro pútrido nas fezes, palidez da conjuntiva e sangramento das membranas mucosas dos olhos, nariz, vagina e ânus; e (2) o *tipo laríngeo*, em que os sinais clínicos incluem febre alta, ronco, dificuldade de respirar e edema de laringe. O tipo laríngeo não foi observado em nenhum dos casos deste estudo, mas é provável que essas manifestações ocorram de modo sobreposto e não como formas clínicas separadas.

Em todos os bovinos deste estudo, a morte ocorreu em aproximadamente dois dias após a observação dos sinais clínicos. A duração média da forma aguda da intoxicação por samambaia desde o aparecimento dos sinais clínicos até a morte é de dois a três dias (Glesson 1944, Osebold 1951, Tokarnia et al. 1967), embora com menor freqüência o curso clínico possa variar de 4-10 horas (Osebold 1951) e casos de recuperação sejam raros (Carpenter et al. 1950, Evans et al. 1954a, Tokarnia et al. 1967).

Neste estudo, a intoxicação aguda por samambaia em bovinos ocorreu na forma de casos isolados ou pequenos surtos com taxas de morbidade de 12,5-21,5%, principalmente nos meses de primavera e verão. Embora a intoxicação possa ocorrer em diferentes épocas do ano (Bosshart & Hagan 1920, Hagan 1922), ela geralmente coincide com épocas de escassez de forragem, associada a fatores que induzem a ingestão da planta em grande quantidade pelos bovinos; esses fatores incluem rebrota da planta depois de roçadas e queimadas, fome, superlotação de pastagens e carência de fibras na alimentação (Tokarnia et al. 1967, Barros et al. 1987).

O glicosídeo norsesquiterpeno ptaquilosídeo foi relatado como o princípio ativo de *P. aquilinum* e é responsável pelas alterações da medula óssea na doença aguda (Hiron et al. 1984); esse princípio é acumulativo e o tempo entre o início da ingestão da planta até o desenvolvimento dos sinais clínicos depende da quantidade de planta ingerida (Sippel 1952, Evans et al. 1954b). Em geral, são necessárias quantidades iguais ou superiores a 10g/kg de peso, por 2-11 semanas (Glesson 1944, Carpenter et al. 1950, Evans 1954b, Naftalin & Cushnie 1954a, Kitahara 1974). Em casos espontâneos da intoxicação aguda geralmente os bovinos estão em pastagens infestadas por samambaia há semanas ou meses (Evans et al. 1954a,c, Tokarnia et al. 1967). Após um primeiro contato dos bovinos com a samambaia alguns deles podem desenvolver "vício" e ingerir a planta com maior facilidade (Sippel 1952).

A lesão primária da intoxicação aguda por *P. aquilinum* em bovinos é uma grave aplasia de medula óssea que resulta em trombocitopenia e leucopenia. Não há nenhuma alteração dos eritrócitos, exceto pela redução do número dessas células associada à hemorragia interna e ocorre bacteremia associada ao desaparecimento completo ou quase completo de neutrófilos no sangue periférico (Naftalin & Cushnie 1954a,b). Se após o aparecimento da bacteremia, o bovino sobreviver por alguns dias, podem ocorrer infartos no fígado, pulmão, rim e baço. O bovino morre em consequência da hemorragia interna (Osebold 1951, Sippel 1952, Barros et al. 1987).

No diagnóstico diferencial da intoxicação aguda por *P. aquilinum* devem ser incluídas anaplasmose, pasteurelose pneumônica (diferencial da forma laríngea), pasteurelose septicêmica, leptospirose, intoxicação por trevo-doce, hemoglobinúria bacilar (Sippel 1952) e intoxicação por derivados cumarínicos (Brito et al. 2005). Na Austrália (Clay 1969, Clark & Dimmock 1971) é descrita uma doença hemorrágica em bovinos causada pela ingestão de uma outra samambaia tóxica (*Cheilanthes sieberi*) cuja base morfológica é também aplasia da medula óssea.

O total de leucócitos dos sete bovinos examinados neste estudo estava apenas levemente abaixo do normal. Isso se deve ao fato de que bovinos têm uma relação linfócitos: neutrófilos de 2:1 na circulação (Thrall 2007). Assim, mesmo quando ocorre neutropenia acentuada, o total de leucócitos diminui pouco, pois o número absoluto de linfócitos permanece dentro dos parâmetros normais. Além disso, como nos bovinos afetados neste estudo sempre houve neutropenia acentuada, os valores relativos de linfócitos eram altos, dando uma falsa impressão de linfocitose.

Houve trombocitopenia em todos os bovinos avaliados neste estudo, o que explica as hemorragias na forma de petéquias e sufusões observadas nesses casos, que são típicas de déficit na hemostasia primária. No entanto, a diminuição do número de plaquetas não era acentuada o bastante para explicar isoladamente a morte dos bovinos. É sabido que trombocitopenia moderada está comumente associada ao aparecimento de petéquias e sufusões em mucosas e na pele (Thrall 2007). No entanto, a morte em decorrência de trombocitopenia ocorre quando há diminui-

ção na quantidade de plaquetas abaixo de 10.000/mm³ de sangue. Nesses casos, ocorre sangramento cavitário fatal ou, pelo menos em seres humanos, distúrbios neurológicos decorrentes de hemorragia encefálica (Jain 1986). A anemia arregenerativa desenvolvida por três dos sete bovinos era normocítica normocrômica. Essa anemia é frequentemente vista nos casos de síndrome hemorrágica aguda (Thrall 2007). Sua gravidade depende principalmente da quantidade de sangue perdida, pois o déficit eritróide está mais relacionado à hemorragia do que à supressão medular, pois a meia-vida do eritrócito de bovinos é muito maior (157-162 dias) do que a das plaquetas e neutrófilos (5-10 dias e 12 horas, respectivamente) (Jain 1986).

Os achados hematológicos anteriormente discutidos indicam que um estudo sistemático da intoxicação aguda por *P. aquilinum* em bovinos é necessário para esclarecer (1) a intensidade da trombocitopenia em diferentes momentos da doença e sua relação com possíveis déficits na hemostasia secundária, (2) a relação da neutropenia com os infartos sépticos ocasionalmente observados na necropsia, e (3) o mecanismo da anemia e sua relação com a perda de sangue, a meia-vida eritróide e a evolução da doença.

REFERÊNCIAS

- Anônimo 1984. Fern poisoning. J. Comp. Path. Therap. 7:165-167.
- Barros C.S.L., Graça D.L., Santos M.N. & Barros S.S. 1987. Intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos no Rio Grande do Sul. Hora Vet., Porto Alegre, 7:333-339.
- Basile J.R., Reis A.C.F. & Gaste L. 1981. Intoxicação aguda de bovinos pela samambaia (*Pteridium aquilinum*) L. Kuhn no Estado do Paraná. Revta Setor Ciênc. Agrárias, p.167-170.
- Benesi F.J., Sakamoto M., Birgel Jr E.H., Birgel E.H. & Silva J.A.P. 1990. Avaliação de um surto de intoxicação aguda causado pela ingestão de samambaia (*Pteridium aquilinum*) (L.) Kuhn em bovinos criados em Paraibuna, SP. Aspectos clínico-hematológicos. Anais XVI Congr. Mundial de Buiatria, Salvador, Bahia, Tomo II, p.13-17.
- Boddie G.F. 1947. Toxicological problems in veterinary practice. Vet. Rec. 59:470-479.
- Bosshart J.K. & Hagan W.A. 1920. A fatal undiefied disease of cattle in New York State. Cornell Vet. 10:102-113.
- Brito M.F., Seixas J.N., Jabour F.F., Andrade G.B., Cunha B.R.M., França T.N. & Peixoto P.V. 2005. Sobre um surto de envenenamento por derivado de dicumarínico em bovinos. Pesq. Vet. Bras. 25:143-149.
- Carpenter K.J., Phillipson A.T. & Thomson W. 1950. Experiments with dried bracken (*Pteris aquilina*). Brit. Vet. J. 106:292-308.
- Clark I.A. & Dimmock C.K. 1971. The toxicity of *Cheilanthes sieberi* to cattle and sheep. Aust. Vet. J. 47:149-152.
- Clay A.L. 1969. Rock fern is a cattle killer. Qd. Agric. J. 95:742.
- Craig J.F. & Davies G.C. 1940. Some observations on bracken poisoning. Vet. Rec. 52:499.
- Craig J.F. & Kehoe D. 1925. Plant poisoning. Vet. Rec. 5:795-825.
- Döbereiner J., Tokarnia C.H. & Canella C.F.C. 1967. Ocorrência de hematúria enzoótica e de carcinomas epidermóides no trato digestivo superior em bovinos no Brasil. Pesq. Agropec. Bras. 2:489-504.
- Evans W.C., Evans E.T. & Hughes L.E. 1954. Studies on bracken fern in cattle. Part I. Brit. Vet. J. 110:295-306.
- Evans W.C., Evans E.T. & Hughes L.E. 1954. Studies on bracken fern in cattle. Part II. Bracken fern experiments (Lluest farm). Brit. Vet. J. 110:365-380.
- Evans W.C., Evans E.T. & Hughes L.E. 1954. Studies on bracken poisoning. Part III. Field outbreaks of bovine bracken poisoning. Brit. Vet. J. 110:426-442.
- Evans W.C., Evans I.A., Axford R.F.E., Threlfall G., Humphreys D.A. & Thomas A.J. 1961. Studies on bracken poisoning. Part III. Field outbreaks of bovine bracken poisoning. Brit. Vet. J. 110:426-442.
- Fletcher J. 1944. Bracken poisoning in cattle. Vet. Rec. 56:478.
- Gleeson L. 1944. Suspected bracken poisoning. Vet. Rec. 56:374.
- Hagan W.A. 1922. Further study of the etiology of an undiagnosed disease of cattle. Cornell Vet. 12:43-54.
- Hagan W.A. 1925. Bracken poisoning in cattle. Cornell Vet. 15:326-332.
- Hagan W.A. & Zeissig A. 1927. Experimental bracken poisoning of cattle. Cornell Vet. 17:194-208.
- Hirano I., Kono Y., Takahashi K., Yamada K., Niwa H., Ojika M., Kigoshi H., Hiiyama K. & Uosaki Y. 1884. Reproduction of acute bracken poisoning in a calf with ptaquiloside, a bracken constituent. Vet. Rec. 115:375-378.
- Jain N.C. 1986. Schalm's Veterinary Hematology. 4th ed. Lea and Febiger, Philadelphia. 1221p.
- Kitahara T. 1974. Experimental studies on bracken poisoning in cattle. Bull. Nippon Vet. Zootech. 23:88-107.
- MacLauchlin D. 1951. Bracken poisoning. Vet. Rec. 63:241-242.
- Marçal W.S. 2003. A intoxicação por samambaia em bovinos no estado do Paraná. Semina: Ciências Agrária, Londrina, 24:197-208.
- Marçal W.S., Gaste L., Reichert Netto N.C. & Monteiro F.A. 2002. Intoxicação aguda pela samambaia (*Pteridium aquilinum* L. Kuhn) em bovinos da raça Aberdeen Angus. Arch. Vet. Sci. 7:77-81.
- Naftalin J.M. & Cushnie G.H. 1954. Pathology of bracken poisoning in cattle. J. Comp. Path. Therap. 64:54-74.
- Naftalin J.M. & Cushnie G.H. 1954. The experimental bracken fern poisoning in calves. J. Comp. Path. Therap. 64:75-86.
- Osebold J.W. 1951. An approach to the pathogenesis of fern poisoning in the bovine species. J. Am. Vet. Med. Assoc. 121:440-441.
- Penberthy J. 1893. Vegetable poisoning (?) simulating anthrax in cattle. J. Comp. Path. Therap. 6:276-279.
- Rissi D.R., Rech R.R., Pierezan F., Gabriel A.L., Trost M.E., Brum J.S., Kommers G.D. & Barros C.S.L. 2007. Intoxicação por plantas e micotoxinas associadas a plantas em bovinos no Rio Grande do Sul. Pesq. Vet. Bras. 27:261-268.
- Shearer G.D. 1945. Some observations on the poisonous properties of bracken (*Pteris aquilina*). J. Comp. Path. 55:301-307.
- Sippel W.L. 1952. Bracken fern poisoning. J. Am. Vet. Med. Assoc. 121:9-13.
- Souto M.A.M., Kommers G.D., Barros C.S.L., Piazer J.V.M., Rech R.R., Riet-Correa F. & Schild A.L. 2006a. Neoplasias do trato alimentar superior de bovinos associadas ao consumo espontâneo de samambaia (*Pteridium aquilinum*). Pesq. Vet. Bras. 26:112-122.
- Souto M.A.M., Kommers G.D., Barros C.S.L., Rech R.R. & Piazer J.V.M., 2006b. Neoplasmas da bexiga associados à hematúria enzoótica bovina. Ciência Rural 36:1647-1650.
- Stamp J.T. 1947. A review of bracken poisoning in cattle. J. Brit. Grasslands Soc. 2:191-194.
- Stockman S. 1917. Bracken Poisoning in Great Britain. J. Comp. Path. Therap. 30:311-316.
- Stockman S. 1922. Bracken Poisoning in Great Britain. J. Comp. Path. Therap. 35:273-275.
- Storror D.M. 1893. Cases of vegetable poisoning in cattle. J. Comp. Path. Therap. 6:276-279.
- Thrall M.A. 2007. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. Roca, São Paulo. 582p.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Canella C.F.C. 1967. Ocorrência da intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) (L.) Kuhn em bovinos no Brasil. Pesq. Agropec. Bras. 2:329-336.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Canella C.F.C. 1969. Ocorrência de hematúria enzoótica e de carcinomas epidermóides no trato digestivo superior em bovinos no Brasil. Part I. Estudos complementares. Pesq. Agropec. Bras. 4:209-224.
- Tustin R.C., Adelaar T.T. & Medal-Johnsen C.M. 1968. Bracken fern poisoning in cattle in Natal Midlands. J. S. Afr. Vet. Med. Assoc. 39(3):91-99.

4 TRABALHO 2

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL AGUDA POR SAMAMBAIA (*Pteridium aquilinum*) EM BOVINOS

Bruno L. Anjos, José V. M. Piazer, Juliana S. Brum, Rafael A. Fighera
Luiz F. Irigoyen e Claudio S. L. Barros

ACEITO PARA PUBLICAÇÃO EM V.29 (00), P.000-000

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Intoxicação experimental aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos¹

Bruno L. Anjos², Luiz F. Irigoyen³, José Vitor M. Piazer⁴, Juliana S. Brum⁵,
Rafael A. Fighera³ e Claudio S. L. Barros^{3*}

ABSTRACT.- Anjos B.L., Irigoyen L.F., Piazer J.V.M., Brum J.S., Fighera R.A. & Barros C.S.L. 2009. [Experimental acute poisoning by bracken fern (*Pteridium aquilinum*) in cattle]. Intoxicação experimental aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 29(0):000-000. Depto de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900 Santa Maria, RS, Brazil. E-mail: claudioslbarros@uol.com.br

This experiment was design to address the following points in relation to the acute poisoning by bracken fern (*Pteridium aquilinum*) in cattle: 1) the severity of the thrombocytopenia in different stages of the intoxication and its relationship to possible deficits in the secondary hemostasis, 2) the relationship between neutropenia and the morphological signs of septicemia occasionally found at necropsy, and 3) the mechanism of anemia and its relationship with blood loss, medium life of erythrocytes and the progress of the disease. The fresh green upper arts of *P. aquilinum* were fed to four mixed breed calves with average age of 18 months and weights ranging from 190 to 215 kg. A calf of similar age and weight was kept together with the other four under the same conditions, except for the ingestion of *P. aquilinum*. The four fern-fed calves died with typical features of acute bracken fern poisoning after being fed for 53-58 days daily doses of 8.0, 8.6, 10.2 e 10.6 g of bracken fern/kg of body weight totaling, at the end of the experiment, respectively 59.3%, 63.3%, 47.4%, 47.5% of

¹ Recebido em xx de xxxxxxxx de 2008.

Aceito para publicação em xx de .xxxxxxxxx de 2009. Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor. Financiada integralmente pelo Grant de Pesquisador I-A do CNPq, Processo 307876/2006-3.

² Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Patologia Veterinária, Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brasil.

³ Depto de Patologia, Centro de Ciências da Saúde, UFSM.

⁴ Inspeção Veterinária de Jaguari, RS. Rua Carlos Calegari 290, Jaguari, RS 97760-000, Brasil.

⁵ Bolsista de iniciação científica do CNPq junto ao Depto de Patologia da UFSM.

* Pesquisador I-A do CNPq. Processo 307876/2006-3; autor para correspondência: claudioslbarros@uol.com.br

fern in relation to the calves body weight. The disease was characterized by fever up to 42.5°C and varying degrees of hemorrhages observed clinically, at necropsy and up histological examination. Death occurred 6-7 days after the onset of fever. The hematological changes consisted mainly of marked thrombocytopenia and neutropenia. Two of the four affected calves had mild anemia. The deficits in secondary hemostasis were mild in each case. There were no significant changes thus permitting to rule out the role of secondary hemostasis in the pathogenesis of the hemorrhages in the bracken fern poisoning. The measurement of fibrin degradation products in the serum yield conflicting results and did not allow for a solid conclusion regarding the role of disseminated intravascular coagulation in the pathogenesis of the hemorrhages in fern poisoning. The cytology and the histopathology of bone marrow from the four poisoned calves revealed marked decrease in the numbers of hematopoietic cells from the three marrow lineages, which characterizes marrow failure due to aplasia; it was concluded that the events of the primary hemostasis due to thrombocytopenia are responsible for the hemorrhages. Blood culture from three affected calves yield the growth of *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus hyicus* and *Staphylococcus aureus*, indicating that septicemia, facilitated by neutropenia could have a role in the death of cattle acutely poisoned due to the ingestion of *P. aquilinum*. Additional points of the interest in the acute experimental poisoning by bracken fern in cattle reported here were the development of hematuria and the so called laryngeal form.

INDEX TERMS: Diseases of cattle, poisonous plants, bracken fern, *Pteridium aquilinum*, disturbs of hemostasis, bone marrow aplasia, pathology.

RESUMO.- Este experimento foi delineado para investigar os seguintes pontos em relação à intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos: 1) a intensidade da trombocitopenia em diferentes momentos da intoxicação e sua relação com possíveis déficits na hemostasia secundária, 2) a relação da neutropenia com as manifestações morfológicas de septicemia ocasionalmente observadas na necropsia, e 3) o mecanismo da anemia e sua relação com a perda de sangue, a vida média eritróide e a evolução da doença. As hastes superiores mais verdes de *P. aquilinum* foram administradas a quatro bovinos sem raça definida, com idade média de 1,5 ano e pesos entre 190-215 kg. Um bovino de idade e peso

semelhantes foi usado como controle e, exceto por não ter recebido *P. aquilinum*, foi mantido nas mesmas condições que os outros quatro. Os quatro bovinos que receberam a planta morreram com quadro característico da intoxicação aguda por samambaia após receberem durante 53-58 dias, doses diárias de 8,0, 8,6, 10,2 e 10,6 g da planta/kg de peso corporal, que totalizaram, ao final do experimento, respectivamente 112,7, 107,6, 85,7, 90,15 kg da planta o que corresponde respectivamente a 59,3%, 63,3%, 47,4%, 47,5% da planta em relação ao peso corporal dos bovinos. A doença caracterizou-se por febre até 42,5°C e diversos graus de hemorragias observadas clinicamente, na necropsia e na histopatologia. A morte ocorria 6-7 dias após o início do quadro febril. As alterações hematológicas revelaram trombocitopenia e neutropenia acentuadas. Em dois dos quatro bovinos havia anemia leve. Não houve variações significativas nos tempos de coagulação dos bovinos intoxicados, excluindo-se assim a possibilidade da participação de distúrbios da hemostasia secundária na patogênese das hemorragias nessa intoxicação. A determinação dos produtos da degradação da fibrina no soro revelou dados conflitantes, não permitindo concluir se a coagulação intravascular disseminada tem participação na patogênese das hemorragias nessa intoxicação. A citopatologia e histopatologia da medula óssea dos quatro bovinos intoxicados revelaram acentuada diminuição no número de células hematopoéticas das três linhagens medulares caracterizando insuficiência medular por aplasia; conclui-se que apenas eventos da hemostasia primária devidos a trombocitopenia são responsáveis pelas hemorragias. A hemocultura de três dos bovinos intoxicados produziu crescimento de *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus hyicus* e *Staphylococcus aureus*, indicando que a septicemia, facilitada pela neutropenia, pode ter participação na causa da morte de bovinos na intoxicação aguda pela ingestão de *P. aquilinum*. Aspectos adicionais de interesse na reprodução da intoxicação aguda por samambaia em bovinos deste relato incluem o desenvolvimento de hematúria na doença aguda e a apresentação da chamada forma laríngea da doença.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Doenças de bovinos, plantas tóxicas, samambaia, *Pteridium aquilinum*, distúrbios da hemostasia, aplasia de medula óssea, patologia.

INTRODUÇÃO

A intoxicação por samambaia (*Pteridium aquilinum*) é a segunda causa mais importante de intoxicação por plantas na Região Central do Rio Grande do Sul, correspondendo a 12% de todas as mortes causadas por plantas tóxicas em bovinos (Rissi et al. 2007). A doença em bovinos manifesta-se sob três formas: duas crônicas, caracterizadas por neoplasmas no trato digestivo superior e bexiga (Tokarnia et al. 1969, Souto et al. 2006a,b), e uma aguda, caracterizada por hemorragias (Tokarnia et al. 1967, Anjos et al. 2008).

Os aspectos históricos, epidemiológicos, laboratoriais, clínicos, patogênicos e patológicos da doença hemorrágica induzida pela ingestão de samambaia em bovinos foram recentemente revisados (Anjos et al. 2008). Os achados clínicos, hematológicos e patológicos observados naquele trabalho indicavam que um estudo sistemático para esclarecer vários pontos da intoxicação aguda por *P. aquilinum* em bovinos era necessário.

O experimento aqui descrito foi então delineado para esclarecer os seguintes aspectos da intoxicação aguda por samambaia em bovinos: 1) a intensidade da trombocitopenia em diferentes momentos da intoxicação e sua relação com possíveis déficits na hemostasia secundária, 2) a relação da neutropenia com os infartos sépticos ocasionalmente observados na necropsia, e 3) o mecanismo da anemia e sua relação com a perda de sangue, a vida média eritróide e a evolução da doença.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais do experimento

Foram utilizados cinco bovinos (Bovinos 1-5), machos, sem raça definida, com média de idade de 18 meses e pesos entre 190-225 kg. Os bovinos foram everminados e mantidos em baias individuais por duas semanas antes do início do experimento para adaptação às instalações e a alimentação. Diariamente, as baias eram limpas e os animais avaliados quanto ao estado geral, o apetite, a coloração das mucosas, a temperatura retal, os movimentos respiratórios, a frequência cardíaca, os movimentos ruminais e o aspecto da urina e das fezes.

Local do experimento, colheita da planta, doses e métodos de administração

A primeira colheita da planta e o início do experimento foram em 5 de novembro de 2007. O local onde a planta era colhida pertence ao município de Jaguari, RS, encontra-se a uma altitude de 381 m e tem precipitação anual de 1.477,7 mm com temperaturas que

variaram no ano de 2007 de 8-33°C. O solo do local tem pH ácido (4,5), propício para o desenvolvimento de *Pteridium aquilinum*. As hastes superiores mais verdes da planta adulta eram colhidas diariamente nas primeiras horas da manhã, trituradas e fornecidas no cocho misturadas a capim e feno de azevém (*Lolium multiflorum*) e capim-papuã (*Brachiaria plantaginea*) na proporção capim:samambaia de 3:1. A essa mistura eram adicionados 50 mL de melação de cana-de-açúcar para melhorar a palatabilidade. Além do volumoso, concentrado a base de milho e soja, era ofertado na proporção de 1% do peso corporal dos bovinos. Os Bovinos 1-4 receberam inicialmente 5 g de samambaia/kg de peso corporal; à medida que os bovinos se adaptavam a ingerir maior quantidades da planta, a dose era gradativamente aumentada até 15 g/kg. O Bovino 5 serviu de controle e recebia apenas feno à vontade e concentrado na mesma proporção dos demais bovinos. Os pesos iniciais e finais dos bovinos, as quantidades de planta ingerida, a dose diária média e o tempo de administração encontram-se no Quadro 1.

Hemograma, coagulograma, bioquímica sérica e hemocultura

Foram colhidos 15 mL de sangue da jugular de todos os bovinos antes da administração da planta (dia zero) e nos dias 30, 45, 53 após o início da ingestão da planta (AIP); coletas adicionais foram realizadas nos dias 56 (Bovino 3) e 58 (Bovinos 2 e 5) AIP. Para realização do hemograma, que incluía eritrograma, leucograma e plaquetograma, foram utilizados 5 mL de sangue acondicionado em tubos com o anticoagulante ácido etilendiaminotetracético (EDTA). Para realização de exames bioquímicos, que incluíam a determinação da atividade sérica das enzimas aspartato-aminotransferase (AST), gama-glutamilttransferase (GGT) e fosfatase alcalina (FA) e a mensuração da uréia e da creatinina, foram utilizados 5 ml de sangue acondicionado em tubos sem anticoagulante. Para a realização do coagulograma, que incluía a determinação do tempo de protrombina (TP), do tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) e dos produtos da degradação da fibrina (PDF), foram utilizados 4,5 ml de sangue acondicionado em tubos contendo 0,5 mL do anticoagulante citrato de sódio a 3,5%.

As contagens sangüíneas foram realizadas em contadores celulares automatizados através do princípio da impedância elétrica; entretanto, o diferencial leucocitário foi realizado de forma manual. Os exames bioquímicos foram realizados sob automatização, por métodos enzimáticos (creatinina), cinéticos (AST e GGT) ou colorimétricos (FA e uréia), através de

química seca. Os tempos de coagulação foram determinados através de técnicas convencionais, automatizadas (TTPA) ou manuais (TP). Os PDF foram determinados de forma semi-quantitativa, em que valores abaixo de 10 mg/mL são considerados negativos e valores acima de 10 mg/mL são considerados positivos.

Adicionalmente, pouco antes da morte dos Bovinos 1-4, foram colhidos 10 mL de sangue da jugular. O mesmo procedimento foi realizado ao final do experimento com o Bovino 5. O sangue desses cinco bovinos foi acondicionado em meio nutritivo estéril para cultivo de bactérias aeróbicas e anaeróbicas. As amostras foram semeadas em ágar McConkey e ágar sangue e foram realizados testes bioquímicos para classificação dos isolados.

Biópsia aspirativa de medula óssea

Biópsia da medula óssea foi realizada através de punção aspirativa por agulha fina (PAAF) nos cinco terneiros do experimento. O local escolhido para todas as punções foi a superfície ventral do corpo do esterno, na altura da segunda ou terceira esternebra. A técnica para punção consistiu de: 1) tricotomia e anti-sepsia da região, anestesia local (pele ao perióstio) com 2 ml de lidocaína a 2% sem vasoconstritor, perfuração da pele com agulha 40 x 12 mm e punção do esterno. O conteúdo aspirado, cerca de 2 ml de medula óssea, era imediatamente misturado ao EDTA presente no interior da seringa. Após homogeneização, os esfregaços eram preparados e, em seguida, corados com panótico rápido. A PAAF da medula óssea dos Bovinos 2-4 foi realizada pouco antes da morte, já a PAAF dos Bovinos 1 e 5 foi realizada logo após a morte e ao final do experimento, respectivamente.

Necropsia e histopatologia

A necropsia dos cinco bovinos foi realizada até duas horas após a morte. Foram colhidos fragmentos de diversos órgãos (Quadro 2). Esses fragmentos eram fixados em formol a 10%, processados rotineiramente para histopatologia e corados pela hematoxilina e eosina. Fragmentos de intestino do Bovino 4 foram adicionalmente corados pelo método do ácido periódico de Schiff (PAS). O encéfalo foi fixado inteiro; após a fixação foi realizado o exame macroscópico através de cortes transversais feitos com intervalos de 1 cm e fragmentos das seguintes regiões foram selecionados para exame histológico: 1) lobo frontal (na altura do joelho do corpo caloso e dos núcleos da base), 2) lobo parietal, 3) hipocampo, 4) tálamo, 5)

mesencéfalo (na altura dos colículos rostrais), 6) cerebelo, 7) ponte com pedúnculos cerebelares e 8) bulbo (na altura do óbex).

RESULTADOS

Achados clínicos

Todos os bovinos do experimento, que receberam a planta, morreram espontaneamente (Bovinos 1-3) ou foram sacrificados quando moribundos (Bovino 4), após apresentarem um quadro clínico com evolução de 6-7 dias. A quantidade de planta ingerida correspondeu respectivamente a 59,3%, 63,3%, 47,4% e 47,5% do peso corporal dos Bovinos 1-4. O tempo decorrido desde o início da ingestão da planta até os primeiros sinais clínicos foi de 47-53 dias.

Os sinais clínicos iniciavam por moderada elevação da temperatura que progredia para picos febris de 41,8-42,5°C; discreta apatia que se tornava pronunciada (Fig. 1), à medida que progredia o curso clínico, ulcerações com sangramento na mucosa das narinas (Fig. 2), salivação excessiva (Fig. 3) e debilidade caracterizada por andar cambaleante e arrastar das pinças. Os bovinos apresentaram ainda fezes fétidas, enegrecidas ou misturadas com sangue (Fig. 4), taquicardia, taquipnéia, anorexia, gengivorragia (Fig. 5), leve palidez das mucosas oculares, petéquias nas mucosas ocular, oral e prepucial. Ao serem submetidos a coletas sanguíneas apresentaram sangramento por mais de 12 horas no local da venopunção, indicando tempo de sangramento acentuadamente prolongado. Todos os bovinos apresentaram hematúria acentuada (Fig. 6) com polaquiúria. Foi observada perda de peso em todos os bovinos do experimento quando comparados com o bovino controle (Quadro 1). Os sinais clínicos de cada bovino estão apresentados em ordem cronológica no Quadro 3.

Hemograma, coagulograma, bioquímica sérica e hemocultura

As alterações hematológicas observadas ao longo do experimento em cada bovino estão detalhadas no Quadro 4. Os hemogramas dos quatro bovinos intoxicados revelaram marcada diminuição na quantidade de neutrófilos, 30 dias AIP. Nesse mesmo período, o bovino controle (Bovino 5) demonstrou leve diminuição no número de neutrófilos circulantes. Entretanto, embora todos os quatro bovinos intoxicados tenham diminuído muito o número de neutrófilos na circulação, apenas um (Bovino 4) pôde ser considerado neutropênico nesse

momento do experimento. Aos 45 dias, três dos quatro bovinos intoxicados (Bovinos 1-3) tiveram variável aumento na contagem absoluta de neutrófilos. Diferentemente desses, o Bovino 4 tornou-se mais gravemente neutropênico. Aos 53 dias, todos os quatro bovinos intoxicados demonstravam acentuada diminuição na quantidade de neutrófilos e estavam marcadamente neutropênicos. Dois desses quatro bovinos não apresentavam neutrófilos circulantes e dois apresentavam apenas 1%-2% de neutrófilos no diferencial de leucócitos. Nesse mesmo período, embora os leucócitos totais tenham acompanhado proporcionalmente as oscilações do número de neutrófilos, só ocorreu diminuição abaixo dos valores de referência, ou seja, leucopenia, no Bovino 4. Outro bovino (Bovino 2) demonstrou leucopenia aos 58 dias. Assim, do total de quatro bovinos intoxicados, quatro tornaram-se neutropênicos e apenas dois tornaram-se leucopênicos. Embora dois dos quatro bovinos (Bovinos 2 e 4) tenham tido marcada diminuição nas contagens absolutas de linfócitos, os valores relativos de todos os quatro bovinos sempre estiveram ao redor de 100% no período ante-morte.

Todos os quatro bovinos intoxicados demonstraram diminuição do éritron, caracterizada por decréscimo da contagem de eritrócitos, da concentração de hemoglobina e do hematócrito. Essa diminuição já podia ser vista a partir da segunda coleta de sangue, aos 45 dias AIP. Entretanto, o bovino controle também demonstrou diminuição do éritron no mesmo período e na mesma proporção. Dois dos quatro bovinos (Bovinos 2 e 4) demonstraram uma pequena diminuição dos valores eritrocitários entre os dias 45 e 53, enquanto outros dois bovinos (Bovinos 1 e 3) demonstraram leve aumento nesses valores no mesmo período. O bovino controle comportou-se quanto aos parâmetros eritróides de forma semelhante aos Bovinos 2 e 4. Assim, dos quatro bovinos intoxicados, apenas dois (Bovinos 2 e 3) ficaram anêmicos durante o experimento e todos, inclusive o bovino controle, demonstraram diminuição dos parâmetros eritróides. Esses dois bovinos tinham anemia leve, não demonstraram na circulação indícios de regeneração medular (anemia arregenerativa) e apresentavam o volume corpuscular médio (VCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) dentro dos parâmetros de referência (anemia normocítica normocrômica).

Os plaquetogramas dos quatro bovinos intoxicados revelaram variável diminuição na quantidade de plaquetas 30 dias AIP. Entretanto, embora todos os quatro bovinos intoxicados tenham diminuído o número de plaquetas na circulação, nenhum pôde ser considerado trombocitopênico nesse momento do experimento. Aos 45 dias, três dos quatro bovinos

intoxicados (Bovinos 2-4) diminuíram ainda mais o número de plaquetas e tornaram-se trombocitopênicos. A gravidade da trombocitopenia nesses três bovinos variava de leve (Bovino 2) a moderada (Bovinos 3 e 4). Aos 53 dias, todos os quatro bovinos intoxicados estavam trombocitopênicos. A gravidade da trombocitopenia nesses quatro bovinos variava de leve (Bovino 2) a acentuada (Bovinos 1-4). O Bovino 2 só se tornou marcadamente trombocitopênico aos 58 dias AIP. Nesse mesmo período, o bovino controle (Bovino 5) demonstrou leve oscilação na quantidade de plaquetas, mas sempre com parâmetros dentro da faixa de normalidade para a espécie. As variações no plaquetograma dos cinco bovinos do experimento podem ser observadas na Fig. 7.

Os coagulogramas demonstraram marcada variação nos diferentes momentos do experimento. Tais variações observadas ao longo do experimento em cada bovino estão detalhadas no Quadro 4.

As alterações da bioquímica sérica observadas ao longo do experimento em cada bovino estão detalhadas no Quadro 5. Dos quatro bovinos intoxicados, todos demonstraram leve aumento nos níveis séricos de uréia em algum momento do experimento. Desses quatro bovinos, três (Bovinos 2-4) demonstraram aumento mais acentuado na última coleta, ou seja, no período ante-morte. Houve leve aumento da GGT em dois (Bovinos 2 e 3) dos quatro bovinos intoxicados. Um desses bovinos (Bovino 2) também demonstrou aumento da AST. Não foram observadas alterações nos níveis séricos da creatinina e na atividade sérica da fosfatase alcalina dos bovinos que ingeriram a planta. Na cultura, as amostras de sangue provenientes dos Bovinos 1, 2 e 3 foram positivas para *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus hyicus* e *Staphylococcus aureus*, respectivamente.

Biópsia aspirativa da medula óssea

Os esfregaços de medula óssea dos quatro bovinos intoxicados apresentaram acentuada diminuição na quantidade de células hematopoéticas das três linhagens medulares (megacariocítica, mielóide e eritróide), o que caracteriza insuficiência medular decorrente de aplasia (Fig. 8A). Os compartimentos megacariocítico e mielóide foram os mais afetados. Em todos os bovinos havia ausência de megacariócitos e diminuição da relação mielóide:eritróide. As únicas células presentes nos esfregaços de medula óssea eram precursores eritróides, principalmente metarrubricitos e rubricitos. Precursores mielóides eram apenas

ocasionalmente observados nos esfregaços. O Bovino 5 apresentou uma medula óssea normal com grande quantidade de células das linhagens mielóide, eritróide e megacariocítica (Fig. 8B).

Achados de necropsia

Hemorragias leves a acentuadas foram observadas em vários órgãos nos Bovinos 1-4 e sua distribuição e intensidades estão no Quadro 6. Grande número de petéquias e sufusões eram observadas no tecido subcutâneo, nas áreas de atrito ou trauma, principalmente nas faces laterais da cavidade abdominal, na altura das últimas costelas e sobre o esterno (área de punção da medula óssea). Na laringe e faringe de três bovinos havia edema acentuado com oclusão parcial da rima da glote; os tecidos adjacentes a essa região eram acentuadamente hemorrágicos e edematosos. Numerosas petéquias e sufusões ocorriam em praticamente todas as serosas dos órgãos da cavidade abdominal. Áreas de hemorragia arredondadas, com bordos irregulares com 2-3 cm de diâmetro eram observadas na serosa do rúmen, retículo, omaso (Fig. 9), abomaso e intestinos (Fig. 10); áreas de hemorragia semelhantes eram observadas na mucosa desses órgãos, nos locais correspondentes às hemorragias das serosas. No caso do intestino delgado, essas áreas correspondiam às placas de Peyer (Fig. 11). Na porção pilórica do abomaso do Bovino 3 havia um coágulo de sangue cilíndrico de 6 cm de diâmetro e 15 cm de comprimento (Fig. 12). Coágulos de sangue semelhantes eram observados no ceco (Fig. 13) e cólon em dois outros bovinos. Múltiplas petéquias eram também vistas no mesentério, principalmente junto a inserção deste ao intestino. Múltiplas hemorragias subcapsulares no fígado e múltiplos pequenos focos (0,1-0,2 cm) brancos de necrose apareciam distribuídos por todo o parênquima hepático. Dois infartos de contornos geométricos e 2x1x1 cm ocorriam distribuídos no lobo direito do fígado do Bovino 2. Essas áreas de infarto eram firmes, brancacentas e entremeadas por hemorragia (Fig. 14). Petéquias e sufusões eram observadas na serosa e mucosa da vesícula biliar de todos os bovinos afetados. Em três bovinos, grandes hematomas distendiam o tecido perirrenal e ligamento do cólon descendente.

Com exceção do Bovino 2, todos os outros bovinos afetados mostravam hemorragias cardíacas; quando o coração era examinado desde a superfície pericárdica percebiam-se numerosos focos hemorrágicos de aproximadamente 0,5 cm de diâmetro que se aprofundam no miocárdio; quando o coração era examinado desde a superfície endocárdica, focos

hemorrágicos subepicárdicos semelhantes podiam ser observados quase que exclusivamente no ventrículo direito.

Em três bovinos com lesões laringo-faríngeas ocorriam hemorragias próximas à entrada das criptas das tonsilas, que apareciam distendidas por edema e hemorragia. Em geral, os linfonodos estavam tumefeitos e com superfície de corte vermelha e úmida. Hematomas ocorriam ao redor dos linfonodos mesentéricos e hepáticos, mas essas hemorragias, em geral, não se estendem para o interior dos linfonodos, com exceção dos linfonodos renais que apresentavam focos de hemorragia de 0,2-0,5 mm de diâmetro na superfície de corte. Focos hemorrágicos de cerca de 2-3 cm de diâmetro com bordas irregulares eram observados na cápsula do baço. Numerosas petéquias e sufusões ocorriam distribuídas pelo timo.

Alterações no sistema respiratório ocorreram nos Bovinos 1-3. No primeiro havia grande número de petéquias e sufusões na pleura parietal e múltiplos lóbulos hemorrágicos apreciavam na porção dorsal do lobo pulmonar diafragmático direito (Fig. 9). Na traquéia e brônquios principais dos Bovinos 1 e 2 havia abundante espuma branca (edema) e petéquias e sufusões eram observadas na mucosa da traquéia. No Bovino 3 observaram-se coágulos de sangue nos seios nasais e nos cornetos (Fig. 15).

Hemorragias eram observadas nos cálices renais dos quatro bovinos afetados; essas hemorragias se estendiam até os ureteres de três bovinos (Fig. 16) desde os cálices renais até próximo o óstio vesical. Na bexiga dos quatro bovinos afetados havia 100-200 ml de urina com sangue (Fig. 17) e observa-se hemorragia e edema difusos e acentuados que se estendiam da mucosa até a serosa causando espessamento da parede vesical (Fig. 18) e, em alguns pontos, se difundiam até os tecidos retroperitoneais adjacentes.

Nos três bovinos em que os testículos foram examinados havia petéquias e pequenas sufusões no mesórcio e na túnica vaginal ao longo do epidídimo; hemorragias multifocais de 0,5 cm de diâmetro podiam ser observadas na superfície de corte dos testículos (Fig. 19) e eram distribuídas por todo o parênquima testicular.

As grandes massas musculares dos membros pélvicos estavam pálidas e continham múltiplas petéquias e sufusões. Um hematoma de 10 x 3 x 1 cm é observado no perimísio do músculo serrato maior de um dos bovinos. Hemartrose acentuada (Fig. 20) foi observada nas articulações dos membros pélvicos nos quatro bovinos afetados. Petéquias foram observadas nas adrenais de dois bovinos afetados.

Nenhuma alteração de necropsia que pudesse ser relacionada com os efeitos da intoxicação foi observada no bovino controle que foi submetido à eutanásia e necropsiado ao final do experimento.

Achados histopatológicos

As alterações hemorrágicas observadas na necropsia foram confirmadas no exame histológico nos quatro bovinos. A distribuição e intensidade das lesões corresponderam respectivamente aos achados macroscópicos (Quadro 6). As hemorragias nos intestinos delgado e grosso eram mais acentuadas na camada serosa e se estendiam até a mucosa nos casos mais graves. Na mucosa as lesões eram mais proeminentes ocorriam em locais com placas de Peyer, onde comumente eram observados perda de vilosidades intestinais com intensa quantidade de células sanguíneas e fibrina (coágulos sanguíneos) e agregados bacterianos. Em meio a essas áreas era observado intenso infiltrado linfoplasmocitário e neutrofílico. Na submucosa dessas regiões havia ainda congestão vascular com tumefação de células endoteliais, hemorragia perivascular e edema acentuado do interstício e de camadas musculares adjacentes. No Bovino 4 eram observadas inúmeras hifas dicotômicas em meio à fibrina e invadindo a parede vascular. Alguns vasos eram totalmente obliterados por exemplares fúngicos PAS-positivos e trombos. As úlceras de abomaso observadas no Bovino 3 atingiam a submucosa que apresentava congestão e hemorragia perivascular. O fígado dos Bovinos 1 e 2 mostraram áreas de hemorragias subcapsulares e congestão leve dos sinusóides hepáticos. As áreas de infarto, vistas na necropsia, eram caracterizadas por áreas de necrose de coagulação aguda multifocais a coalescente aleatórias (Fig. 21). Trombos sépticos com quantidades massivas de agregados bacterianos, predominantemente obliteravam artérias e arteríolas periportais e inúmeros sinusóides em direção as veias centrolobulares. Os Bovinos 3 e 4 demonstraram apenas áreas hemorrágicas subcapsulares. Hemorragias leves a acentuadas e edema eram observados em toda a parede da vesícula biliar dos quatro bovinos; nos Bovinos 2 e 4 as lesões eram acentuadas. Congestão moderada dos vasos sanguíneos do parênquima renal e dos glomérulos foi observada nos quatro bovinos. Hemorragias perivasculares e edema na região da pelve renal variaram de leve a moderada. O Bovino 2 exibiu trombos séptico na região medular do rim. No encéfalo, observou-se edema moderado e leves hemorragias nos vasos das leptomeninges e do neurópilo. Observavam-se hemorragias no parênquima e

superfície capsular das adrenais, baço, medula espinhal e pulmão. Nos quatro bovinos era observada acentuada aplasia de medula óssea com marcada perda da série granulocítica e eritrocítica e ausência de megacariócitos (Fig. 22). Com a perda dessas células os adipócitos tornavam-se mais evidentes e os eritrócitos distendiam os sinusóides.

DISCUSSÃO

Os bovinos deste experimento demonstraram-se susceptíveis ao efeito tóxico da planta, desenvolvendo sinais clínicos e achados patológicos característicos da doença (Osebold 1951, Sippel 1952, Evans et al. 1954, Tustin et al. 1968, Naftalin & Cushnie 1954, Anjos et al. 2008). Experimentos anteriores revelaram que em casos agudos da intoxicação por *P. aquilinum* os bovinos que ingerem doses diárias da planta superiores a 10 g/kg do peso corpóreo ou totalizando em média o valor do seu peso corporal, desenvolvem a forma aguda (Kitahara 1974). Neste experimento, a maior quantidade de planta ingerida correspondeu a 63,3% do peso do bovino e as doses médias diárias variaram entre 8-10,5 por até 58 dias.

É descrito que o princípio ativo (ptaquilosídeo) presente em *P. aquilinum* tem ação radiomimética que medeia a aplasia progressiva da medula óssea e a síndrome hemorrágica associadas à intoxicação aguda em bovinos (Fenwick 1988, Hirono et al. 1984). A lesão aplásica da medula óssea é semelhante às observadas em casos de anemia aplásica por irradiação (Young 2002). Nestes casos, o agente patogênico promove distúrbios de expressão antigênica e genéticos nas células-tronco e células-tronco pluripotentes da medula óssea, que passam a expressar moléculas de superfície que induzem uma resposta imune, na qual, linfócitos T produzem citocinas que inibem sua proliferação e diferenciação em células mielóides. Acredita-se ainda que as alterações genéticas sofridas por essas células também inibem sua diferenciação (Brodsky & Jones 2005, Young 2002). Além disso, a radiação pode causar danos permanentes na parede dos vasos sanguíneos com aumento da permeabilidade vascular para moléculas maiores que intensificam o quadro hemorrágico (Evans 1968, Fenwick 1988).

Com base no fato de que alguns bovinos intoxicados espontaneamente por samambaia apresentam hemorragias na forma de equimoses, hematomas e derrame cavitário hemorrágico, foi aventada a hipótese de que, além da já conhecida patogênese que tem como base a trombocitopenia, algum distúrbio na hemostasia secundária pudesse estar envolvido nesse

processo (Anjos et al. 2008). Baseado nisso, foi realizada a determinação dos tempos de coagulação (TP e TPPA). Os resultados por nós encontrados demonstram que: 1) não houve prolongamento nos tempos de coagulação (TP e TPPA) (Bovino 1), 2) houve prolongamento no TTPA, mas que não ultrapassou o limite fisiológico descrito para espécie (Bovino 3), 3) houve prolongamento no TTPA que ultrapassou o limite fisiológico, mas esses valores eram semelhantes aos vistos em outro bovino (Bovino 1) antes da ingestão da planta, 4) houve prolongamento no TP (Bovinos 2 e 4), entretanto, nesses dois casos, os valores estiveram próximos ao limite fisiológico máximo descrito para espécie. Assim, na nossa interpretação, as variações nos tempos de coagulação não são significativas e excluem a possibilidade de alteração da hemostasia secundária na patogênese dessa intoxicação. A determinação dos PDF na circulação dos bovinos foi realizada na busca de subsídios que permitissem confirmar ou refutar a possibilidade de ocorrência de coagulação intravascular disseminada (CID). Entretanto, como a partir dos 45 dias todos os bovinos, incluindo o bovino controle, apresentaram níveis detectáveis de PDF na circulação, esses resultados foram invalidados. Com base nesse aspecto não foi possível determinar a ocorrência ou não de CID, entretanto, com base nos achados referentes aos tempos de coagulação, pode-se afirmar que tal fenômeno não ocorreu em nenhum dos bovinos deste experimento.

É possível que a ocorrência de um padrão hemorrágico não puramente típico de distúrbio da hemostasia primária, ou seja, não observado apenas como petéquias, sufusões e víbices, mas sim uma associação dessas lesões com equimoses, hematomas e acúmulo de sangue intracavitário, ocorra apenas pela trombocitopenia. Nesse caso, isso poderia ser explicado pela falta da plaqueta como base de nucleação dos fatores de coagulação. É sabido que a exposição da fosfatidilserina, um fosfolípido da camada interna da membrana plaquetária, é fundamental na coagulação, pois é sobre essa superfície plaquetária que irá ocorrer a ativação do fator X e da protrombina através da formação dos complexos tenase e protrombinase. Dessa forma, a ausência das plaquetas, em decorrência da trombocitopenia induzida pela planta, causaria não só o já conhecido déficit na hemostasia primária, mas também déficit na hemostasia secundária, o que explicaria a ocorrência desse padrão hemorrágico misto, mesmo com tempos de coagulação normais, pois tais tempos são determinados *in vitro* e, conseqüentemente, seus resultados laboratoriais independem do número de plaquetas apresentado pelo indivíduo no momento da coleta do sangue.

Os achados hematológicos mais importantes observados nos bovinos deste estudo foram leucopenia por neutropenia e trombocitopenia. Diminuição nos valores absolutos de neutrófilos e plaquetas já podia ser vista 30 dias AIP, entretanto, nesse momento do experimento, apenas um bovino era neutropênico e nenhum era trombocitopênico. Aos 53 dias todos os bovinos podiam ser considerados marcadamente neutropênicos e trombocitopênicos. Diferentemente desses achados, apenas dois dos quatro bovinos tornaram-se anêmicos. Além disso, a anemia vista nesses dois bovinos era leve, ao contrário da neutropenia e da trombocitopenia, que era acentuada. Acreditamos que esses achados hematológicos possam ser explicados pela vida média de cada uma das células envolvidas. Plaquetas e eritrócitos de bovinos têm vida média de 5-10 dias e 157-162 dias, respectivamente. Embora a literatura consultada não descreva a vida média dos neutrófilos de bovinos, a vida média dessas células em cães, eqüinos e humanos é de 5,5-7,6 horas, 10,5 horas e 7-14 horas, respectivamente. Dessa forma, quando a medula óssea deixa de produzir os elementos figurados do sangue em decorrência de alguma agressão aguda, a diminuição ocorrerá de acordo com a vida média de cada célula. Assim, na aplasia medular aguda, independentemente da causa ou da espécie afetada, neutropenia será notada um pouco antes de trombocitopenia e ambas ocorrerão muito antes da anemia. Além disso, como a vida média dos eritrócitos de mamíferos é muito longa, é bem provável que a morte do animal ocorra antes de estabelecer-se um quadro anêmico em decorrência da insuficiente produção dos eritrócitos (Figuera 2001). Obviamente, as hemorragias decorrentes da trombocitopenia farão o animal perder sangue e, conseqüentemente, tornar-se anêmico, mas, nesse caso, a anemia decorre muito mais da perda dos eritrócitos do que da falha na sua produção. Essa hipótese já havia sido levantada por outro autor (Valli 2007) e pôde ser comprovado neste estudo, pois embora todos os quatro bovinos intoxicados tenham demonstrado claras evidências hematológicas de aplasia medular, vista como neutropenia e trombocitopenia marcada, apenas dois demonstraram anemia leve.

A determinação da atividade sérica das enzimas AST, GGT e FA e a mensuração da uréia e da creatinina, realizadas com a finalidade de avaliar o comportamento bioquímico hepático e renal frente a um possível quadro de CID, demonstraram apenas alterações relacionadas com o metabolismo protéico e com lesão hepática primária. Todos os bovinos afetados apresentaram aumento da uréia não associado à alteração dos níveis de creatinina, ou seja, aumento da uréia de origem não renal. Isso provavelmente se deva a um aumento na

absorção de proteínas decorrente da hemorragia intestinal, pois é sabido que animais e humanos com doença intestinal hemorrágica desenvolvem aumento nos níveis de uréia por esse mecanismo. O aumento na atividade sérica das enzimas AST e GGT que ocorreu no Bovino 2 é provavelmente decorrente da necrose associada à presença de colônias bacterianas que embolizaram para o fígado. O motivo pelo qual o Bovino 1, que também apresentou necrose hepática secundária à embolização bacteriana, não desenvolveu manifestação bioquímica da mesma forma que o Bovino 2 não pôde ser estabelecido. Também não pôde ser explicado o motivo pelo qual o Bovino 3 demonstrou aumento na atividade sérica da GGT.

Os isolados bacterianos apresentados neste estudo são descritos como importantes agentes em doenças septicêmicas tanto em animais domésticos como em humanos (Angus et al. 2001, Biberstein et al. 1984). É possível que complicações septicêmicas tenham participação na morte de bovinos intoxicados com *Pteridium aquilinum*.

É interessante ressaltar duas manifestações clinicopatológicas apresentadas pelos bovinos deste experimento. A primeira delas é a hematúria. Hematúria é geralmente associada a tumores vesicais na à intoxicação crônica por samambaia (Tokarnia et al. 1969, Souto et al 2006b). No entanto, lesões hemorrágicas de bexiga podem também produzir hematúria na intoxicação aguda, como foi verificado nos quatro bovinos deste estudo e como já tinha sido descrito na literatura associados a casos espontâneos de intoxicação aguda por samambaia em bovinos (Bosshart & Hagan 1920, Glesson 1944). A segunda é a manifestação da forma laríngea. Dois tipos de manifestação clínica têm sido observados na intoxicação aguda por samambaia em bovinos (Fletcher 1944, Sippel 1952): (1) o *tipo entérico*, que é o mais freqüente, caracteriza-se principalmente por sinais clínicos de depressão, perda de apetite, temperaturas elevadas e pulso fraco. São encontrados ainda, enterite, com coágulos de sangue e cheiro pútrido nas fezes, palidez da conjuntiva e sangramento das membranas mucosas dos olhos, nariz, vagina e ânus; e (2) o *tipo laríngeo*, em que os sinais clínicos incluem febre alta, ronco, dificuldade de respirar e edema de laringe. O tipo laríngeo ainda não havia sido descrito em associação à intoxicação aguda por samambaia em bovinos no Brasil. No entanto, achamos que esse sinal clínico caracterizado por ronco e dispnéia deve ser considerado como indicativo no diagnóstico da intoxicação aguda por samambaia em bovinos, mas é arbitrário dividir a doença em duas formas ou dois tipos, pois os sinais clínicos se sobrepõem.

REFERÊNCIAS

- Angus D.C., Linde-Zwirble W.T., Lidicker J., Clermont G., Carcillo J. & Pinsky M.R. 2001. Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit. Care Med.* 29:1303-1310.
- Anjos B.L., Irigoyen L.F., Figuera R.A., Gomes A.D., Kommers G.D & Barros C.S.L. 2008. Intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos na Região Central do Rio Grande do Sul. *Pesq.Vet. Bras.* 28:501-507.
- Biberstein E.L., Jang S.S. & Hirsh D.C. 1984. Species distribution of coagulase-Positive staphylococci in animals. *J. Clin. Microbiol.* 19: 610-615.
- Bosshart J.K. & Hagan W.A. 1920. A fatal uninfected disease of cattle in New York State. *Cornell Vet.* 10:102-13.
- Brodsky R.A. & Jones R.J. 2005. Aplastic anemia. *Lancet* 365:1647-1656.
- Evans W.C., Evans E.T. & Hughes L.E. 1954. Studies on bracken fern in cattle. Part I. *Brit. Vet. J.* 110:295-306.
- Evans I.A. 1968. The radiomimetic nature of bracken toxin. *Cancer Res.* 28:2252- 2261.
- Fenwick G.R. 1988. Bracken (*Pteridium aquilinum*) – Toxin effects and toxic constituents. *J. Sci. Food Agric.* 46:147-173.
- Gleeson L. 1944. Suspected bracken poisoning. *Vet. Rec.* 56:374.
- Figuera R.A. 2001. Anemia em Medicina Veterinária. Santa Maria, O autor. 214p.
- Fletcher J. 1944. Bracken poisoning in cattle. *Vet. Rec.* 56:478.
- Hirono I., Kono Y., Takahashi K., Yamada K., Niwa H., Ojika M., Kigoshi H., Nuyama K. & Uosaki Y. 1984. Reproduction of acute bracken poisoning in a calf with ptaquiloside, a bracken constituent. *Vet. Rec.* 115(15):375-378.
- Kitahara T. 1974. Experimental studies on bracken fern poisoning in cattle. *Bulletin of the Nippon Veterinary and Zootechnical College* 23:88107 [Abstract, *Vet. Bull.*]
- Naftalin J.M. & Cushnie G.H. 1954. The experimental bracken fern poisoning in calves.
- Osebold J.W. 1951. An approach to the pathogenesis of fern poisoning in the bovine species. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 121:440-441.
- Rissi D.R., Rech R.R., Pierezan F., Gabriel A.L., Trost M.E., Brum J.S., Kommers G.D. & Barros C.S.L. 2007. Intoxicação por plantas e micotoxinas associadas a plantas em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 27:261-268.
- Sippel W.L. 1952. Bracken fern poisoning. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 121:9-13.

- Souto M.A.M., Kommers G.D., Barros C.S.L., Piazer J.V.M., Rech R.R., Riet-Correa F. & Schild A.L. 2006a. Neoplasias do trato alimentar superior de bovinos associadas ao consumo espontâneo de samambaia (*Pteridium aquilinum*). Pesq. Vet. Bras. 26:112-122
- Souto M.A.M., Kommers G.D., Barros C.S.L., Rech R.R. & Piazer J.V.M., 2006b. Neoplasmas da bexiga associados à hematúria enzoótica bovina. Ciência Rural 36:1647-1650.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Canella C.F.C. 1967. Ocorrência da intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) em bovinos no Brasil. Pesq. Agropec. Bras. 2:329-336.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Canella C.F.C. 1969. Ocorrência de hematúria enzoótica e de carcinomas epidermóides no trato digestivo superior em bovinos no Brasil. Part I. Estudos complementares. Pesq. Agropec. Bras. 4:209-224.
- Tustin R.C., Adelaar T.T. & Medal-Johnsen C.M. 1968. Bracken fern poisoning in cattle in Natal Midlands. J. S. Afr. Vet. Med. Assoc. 39(3):91-99
- Valli V.E.O. 2007. Hematopoietic system, p. 107-324. In: Maxie M.G. Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals. Vol. 3, 5th ed. Elsevier, Philadelphia.737p.
- Young N. S. 2002. Acquired aplastic anemia. Ann. Intern. Med.136:534-546.

Quadro 1. Peso inicial, quantidade de planta administrada, dose diária, tempo de administração e peso final dos bovinos na intoxicação experimental aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*)

Bovino	Peso inicial (kg)	Total de planta ingerido (kg)	Tempo de administração (dias)	Dose diária média (g/kg) ^a	Peso final (kg)
1	200	112,7	58	10,2	190
2	190	107,6	58	10,5	170
3	200	85,4	57	8,0	180
4	215	90,2	53	8,6	190
5 ^b	225	-	-	-	300

^aFoi considerada a média dos pesos inicial e final para obtenção dos valores das doses diárias médias, ^bControle.

**Quadro 2. Intoxicação experimental aguda por *Pteridium aquilinum* em bovinos.
Órgãos colhidos para histopatologia**

Órgão	Bovino				
	1	2	3	4	5
Abomaso	●	○	●	●	●
Adrenal	●	●	●	●	○
Baço	●	●	●	●	●
Bexiga	●	●	●	●	○
Coração	●	●	●	●	○
Encéfalo	●	●	●	●	●
Fígado	●	●	●	●	●
Intestino delgado	●	●	●	●	●
Intestino grosso	○	○	●	○	●
Laringe	●	●	●	●	○
Linfonodo pré-escapular	○	●	●	○	●
Linfonodos hepáticos	○	○	●	●	○
Linfonodos mesentérico	●	●	●	●	○
Linfonodos poplíteos	○	○	●	○	○
Linfonodos renais	○	○	●	●	○
Linfonodos retrofaríngeos	●	●	●	●	●
Músculo esquelético	○	○	●	○	○
Medula óssea (esternebra)					●
Omaso	●	○	○	○	●
Pulmão	●	●	●	●	●
Retículo	○	○	●	●	○
Reto	●	○	●	●	○
Rim	●	●	●	●	●
Rúmen	●	○	●	○	●
Testículos	●	○	○	●	○
Timo	○	●	●	●	○
Tonsilas	●	●	●	●	○
Traquéia	○	●	○	○	○
Ureteres	○	○	○	●	○
Vesícula biliar	○	●	○	○	○

(●) colhido e examinado histologicamente; (○) não colhido

Quadro 3. Evolução da doença e sinais clínicos na intoxicação experimental aguda por *P. aquilinum* em bovinos

Bovino	Evolução clínica	Sinais Clínicos
1	6 dias (53–58 dias AIP ^a)	53° dia AIP: hematuria leve. Petéquias na mucosa oral e ocular TR ^b de 38,9°C. 54° dia AIP: apatia e inapetência leves, discretos coágulos de sangue nas fezes e leve sialorréia. 55° dia AIP: dificuldade respiratória com discretos estertores (ronco) permanecendo assim até o dia 58 AIP. 57° dia AIP: hematuria acentuada e polaquiúria. Petéquias e equimoses na mucosa oral e ocular TR de 41,9°C. Sialorréia acentuada, diarreia sanguinolenta fétida e enegrecida, bruxismo, desequilíbrio, mioclonias, pêlos arrepiados e mucosas oculares, oral e do prepúcio pálidas. 58° dia AIP: hematuria acentuada, atonia ruminal, aumento da FC ^c e FR ^d e respiração diafragmática pouco antes da morte. Baixa da TR para 38,5°C; morte.
2	6 dias (53–58 dias AIP)	53° dia AIP: apresentou apenas hematuria leve. descarga nasal mucossanguinolenta leve. 54° dia AIP: petéquias na mucosa oral e ocular, TR de 39,7°C. 55° dia AIP: TR de 41,8°C. Apatia e inapetência leves. Descarga nasal mucossanguinolenta leve. 56° dia AIP: discretos coágulos de sangue nas fezes que evoluíram para acentuados nos dias seguintes. 57° dia AIP: hematuria acentuada com polaquiúria; equimoses na mucosa oral e ocular; apatia e inapetência; TR de 41,5°C. Diarreia sanguinolenta fétida e enegrecida, leve sialorréia, dificuldade respiratória com discretos estertores (ronco) que permaneceram até o dia 58 AIP e mucosas oral, ocular e do prepúcio pálidas. 58° dia AIP: descarga nasal mucossanguinolenta leve. Bruxismo, gengivorragia, desequilíbrio, mioclonias e pêlos arrepiados e atonia ruminal, além do aumento da FC e FR e respiração diafragmática pouco antes da morte.
3	6 dias (52–57 dias AIP)	52° dia AIP: TR de 39°C. 53° dia AIP: TR de 42,2°C; hematuria leve. 54° dia AIP: apatia e inapetência leves. 55° dia AIP: Hematuria acentuada com polaquiúria. Petéquias na mucosa oral e ocular. Leve dificuldade respiratória com discretos estertores (ronco). Úlceras leves na mucosa nasal. Acentuada diarreia sanguinolenta fétida e enegrecida e mucosas oculares, oral e do prepúcio pálidas. 56° dia AIP: Hematuria acentuada com polaquiúria. Petéquias e equimoses na mucosa oral e ocular, apatia e inapetência acentuadas. Moderados coágulos de sangue nas fezes (consistência normal); leve sialorréia e descarga nasal mucossanguinolenta. Moderada dificuldade respiratória com discretos estertores (ronco); úlceras leves com sangramento na mucosa nasal. 57° dia AIP: TR de 39,0°C; sialorréia e descarga nasal mucossanguinolenta acentuadas. Apresentou bruxismo, gengivorragia, desequilíbrio, mioclonias, pêlos arrepiados e atonia ruminal, além de aumento da FC e FR e respiração diafragmática. Acentuada dificuldade respiratória com discretos estertores (ronco); morte.
4	7 dias (47-53 dias AIP)	47 dias AIP: TR de 39,1°C. 51 dias AIP: apatia e inapetência leves. 52 dias AIP: TR de 42,5°C; apatia e inapetência acentuadas. Hematuria com polaquiúria, equimoses, dificuldade respiratória com estertores (ronco) moderados. 53 dias AIP: TR de 42,2°C Hematuria com polaquiúria, equimoses, dificuldade respiratória com estertores (ronco) acentuados. Mucosas oculares, oral e do prepúcio pálidas; descarga nasal mucossanguinolenta moderada; bruxismo, gengivorragia, desequilíbrio, mioclonias e pêlos arrepiados, atonia ruminal, aumento da FC e FR e respiração diafragmática pouco antes da morte.
5	Não adoeceu	Sem alterações

^aAIP = Após ingestão da planta; ^bTemperatura retal; ^cFrequência cardíaca, ^dFrequência respiratória.

Quadro 4. Dados hematológicos da intoxicação experimental aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos

Bovinos	Coletas (Dias) ^a	Erit ^b 5,0-10,0 x10 ⁶ /mm ³	Hemat ^c 24-46 %	Hemog ^d 8,0-15,0 g/dl	VCM ^e 40,0-60,0 fl	CHCM ^f 30,0-36,0 g/dl	Leuc ^g 4.000-12.000 /mm ³	Neut ^h 600-4.000 /mm ³ (15-45%)	Linf ⁱ 2.500-7.500 /mm ³ (45-75%)	Mon ^j 25-840 /mm ³ (2-7%)	Eos ^k 0-2.400 /mm ³ (0-20%)	Bas ^l 0-200 /mm ³ (0-2%)	Plaq ^m 100-800 x10 ³ /mm ³	TTPA ⁿ 25-45 seg	TP ^o 20-30 seg	PDF ^p <10 mg/ml
1	0	8,2	38	12,4	46,3	32,6	8.400	3.108 (37)	5.208 (62)	0	84 (1)	0	360	60,7	28,2	N ^q
	30	7,6	36	12,2	48,1	33,5	4.000	680 (17)	3.240 (81)	0	40 (1)	40 (1)	117	41,1	19,4	N
	45	5,9	28	9,5	47,4	33,9	5.400	702 (13)	4.536 (84)	162 (3)	0	0	150	30,7	16,4	P ^r
	53	6,1	31	9,5	50,8	30,6	4.700	47 (1)	4.606 (98)	47 (1)	0	0	7	43,3	19,9	P
2	0	7,1	31	9,5	43,7	30,6	11.500	3.795 (33)	7.590 (66)	0	115 (1)	0	424	53,8	15,8	N
	30	7,0	32	11,2	46,3	34,3	4.100	615 (15)	3.444 (84)	0	41 (1)	0	237	30,9	16,6	N
	45	4,9	23	7,9	46,9	34,3	9.500	1.710 (18)	6.555 (69)	190 (2)	1.045 (11)	0	85	31,5	20,2	P
	53	4,5	22	7,5	48,9	34,1	5.300	106 (2)	5.141 (97)	0	0	53 (1)	70	44,6	14,4	P
	58	4,0	19	6,5	47,5	34,2	1.000	0	1.000 (100)	0	0	0	3,5	43,3	32,8	P
3	0	7,8	33	9,5	42,3	28,8	12.100	2.299 (19)	9.317 (77)	0	242 (2)	242 (2)	382	37,6	18,2	N
	30	7,2	33	10,1	45,6	30,9	4.400	660 (15)	3.740 (85)	0	0	0	208	32,3	19,3	P
	45	5,3	24	8,3	45,2	34,6	9.900	1.584 (16)	8.118 (82)	198 (2)	0	0	20	42,2	16,3	P
	53	5,7	26	9,0	45,6	34,6	6.500	0	6.305 (97)	195 (3)	0	0	4	39,2	17,9	P
	56	5,1	23	7,9	45,1	34,3	5.100	0	5.100 (100)	0	0	0	12	49,3	20,2	P
4	0	8,7	38	11,9	43,7	31,3	13.100	3.144 (24)	8.646 (66)	0	1.310 (10)	0	152	43,7	17,4	N
	30	9,1	40	12,9	44,5	31,9	5.100	255 (5)	4.692 (92)	0	153 (3)	0	141	36,5	17,9	N
	45	6,3	28	10,1	44,4	36,1	6.000	60 (1)	5.760 (96)	120 (2)	0	60 (1)	26	47,6	20,7	P
	53	5,3	24	8,6	45,3	35,8	1.700	0	1.700 (100)	0	0	0	5	64	33,4	P
5 (controle)	0	7,6	34	11,0	44,7	32,4	9.900	5.643 (57)	3.663 (37)	99 (1)	495 (5)	0	405	36,1	14,6	N
	30	7,7	36	11,1	46,4	31,1	5.400	2.214 (41)	3.078 (57)	0	54 (1)	54 (1)	456	33,1	18,7	N
	45	5,6	27	9,0	48,2	33,3	11.100	1.998 (18)	8.658 (78)	222 (2)	222 (2)	0	302	29,7	17,8	P
	53	5,6	26	9,4	46,4	36,1	10.300	2.884 (28)	6.695 (65)	206 (2)	515 (5)	0	321	45,2	19,8	P
	58	6,8	33	11	48,5	33,3	10.200	3.060 (30)	6.936 (68)	102 (1)	102 (1)	0	345	24,2	16,2	P

^aMomento das avaliações; ^beritrócitos; ^chematócrito; ^dhemoglobina; ^evolume corpuscular médio; ^fconcentração de hemoglobina corpuscular média; ^g leucócitos; ^hneutrófilos; ⁱlinfócito; ^jmonócitos; ^keosinófilos; ^lbasófilos; ^mplaquetas; ⁿtempo tromboplastina parcial ativada; ^otempo de protrombina; ^pprodutos de degradação da fibrina.

Quadro 5. Achados da bioquímica sérica observados nos quatro bovinos intoxicados experimentalmente por *Pteridium aquilinum* e num bovino controle

Bovino	Coletas (Dias AIE ^a)	AST ^b (40-130 UI/L)	GGT ^c 10-26 UI/L	FA ^d (0-488 UI/L)	Uréia (7-20 mg/dL)	Creatinina (1,0-1,8 mg/dL) ^e
1	0	65	15	120	24	0,8
	30	56	21	209	34	1,2
	45	52	19	113	21	0,9
	53	62	18	139	18	1,0
2	0	55	21	139	25	0,9
	30	51	17	155	28	1,0
	45	50	13	88	23	1,1
	53	49	12	91	16	0,8
	58	155	40	33	59	1,5
3	0	76	11	139	28	1,0
	30	78	30	188	31	1,1
	45	93	14	104	23	1,3
	53	113	10	134	28	1,3
	56	86	5	30	54	1,1
4	0	70	18	90	21	0,8
	30	60	16	151	28	1,2
	45	56	16	130	25	1,3
	53	52	12	30	33	1,4
5 (Controle)	0	49	14	95	20	0,9
	30	53	12	131	22	0,9
	45	48	16	151	16	0,4
	53	47	16	119	13	0,6
	58	41	11	129	14	0,6

^aApós o início do experimento; ^baspartato aminotransferase, ^cgama-glutamilttransferase, ^dfosfatase alcalina; ^eos números entre parênteses após o nome do parâmetro são os valores de referência.

Quadro 6. Intensidade das lesões de acordo com a localização anatômica na intoxicação experimental aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos

Lesão	Orgão afetado	Intensidade			
		Bovino			
		1	2	3	4
Hemorragia	Abomaso	++ ^a	+ ^b	+++ ^c	+
	Adrenais	- ^d	-	+	+++
	Articulações	+++	+++	+++	+++
	Baço	+	+++	+++	+++
	Bexiga	+++	+++	+++	+++
	Ceco	+++	+++	+++	-
	Conjuntiva	++	++	++	++
	Coração	++	-	+++	+++
	Diafragma	+++	-	+	+
	Esôfago	+	-	-	-
	Fígado	+	+	+++	-
	Intestino delgado	+++	+	+++	++
	Cólon	+++	++	+++	++
	Laringe/faringe	++	-	+++	+++
	Linfonodos pré-escapulares	-	+	+	-
	Linfonodos hepáticos	-	-	+	+
	Linfonodos jejunais	-	-	+++	-
	Linfonodos poplíteos	-	-	+	-
	Linfonodos renais	-	-	+	+
	Linfonodos retrofaringeos	+++	-	+++	+++
	Língua	+	-	+	++
	Medula espinhal	+	++	-	-
	Mesentério	++	-	+++	++
	Músculos esqueléticos	-	+	+++	-
	Omaso	+	+++	++	+
	Omento	++	++	++	-
	Pelve renal	++	++	+++	+++
	Peritônio	-	++	-	-
	Pulmão	-	++	-	-
	Retículo	+	-	++	+
	Reto	++	-	-	+++
	Rim (cálices)	+++	++	+++	+++
	Rúmen	+	-	-	+
	Seios frontais	-	-	+++	-
Subcutâneo	++	++	++	+++	
Testículos	+++	- ^e	+++	+++	
Timo	++	-	+++	+++	
Tonsila	+	-	++	+++	
Traquéia	++	++	-	-	
Ureteres	+++	-	+++	+++	
Uretra (porção peniana)	+	-	++	-	
Vesícula biliar	+	+++	+	+++	
Edema	Laringe	++	-	++	+++
	Pulmão	+++	+++	-	-
Infarto	Fígado	+++	+++	-	-
Úlcera	Abomaso	-	-	++	-

^a(++) moderada; ^b(+) leve; ^c(+++) acentuada; ^d(-) ausente; ^emacho castrado



Fig. 1. Bovino 2 demonstrando acentuada apatia na intoxicação experimental aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*).

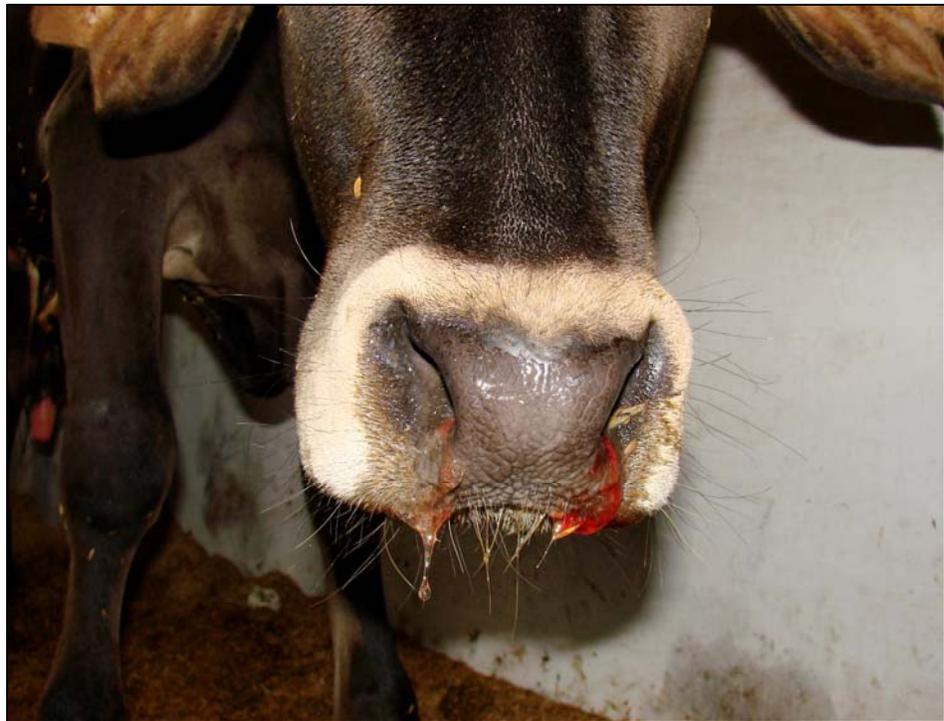


Fig. 2. Bovino 3 com sangramento pelas narinas na intoxicação experimental aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*).



Fig. 3. Bovino 4 com salivação excessiva na intoxicação experimental aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*).



Fig. 4. Bovino 3 com diarreia sanguinolenta na intoxicação experimental aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*).



Fig. 5. Bovino 4 com gengivorragia na intoxicação experimental aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*).



Fig. 6. Bovino 4 com hematúria na intoxicação experimental aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*).

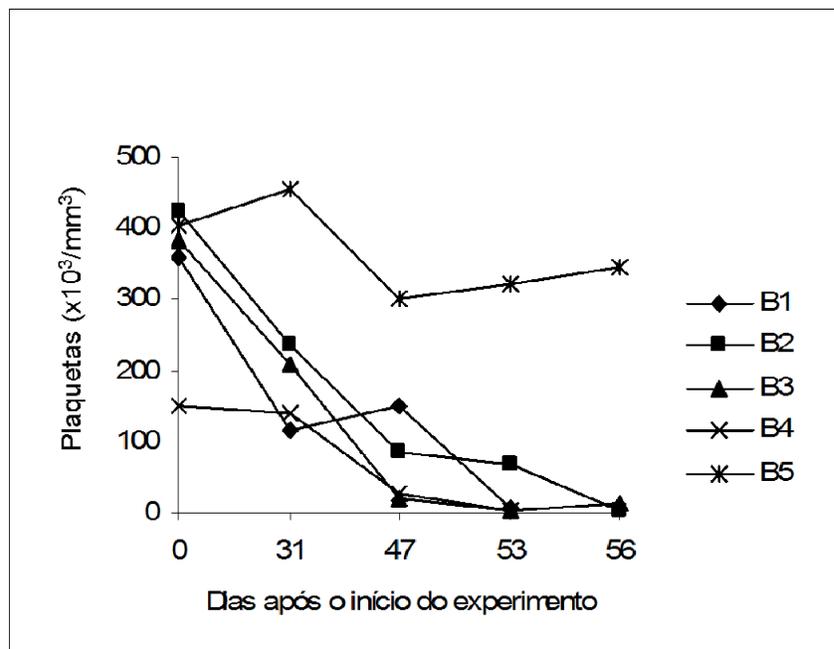


Fig. 7. Representação gráfica do plaquetograma dos cinco bovinos usados no experimento de intoxicação experimental aguda por *Pteridium aquilinum* em bovinos. B1-B4 são os bovinos que receberam a planta. B5 é o bovino controle.

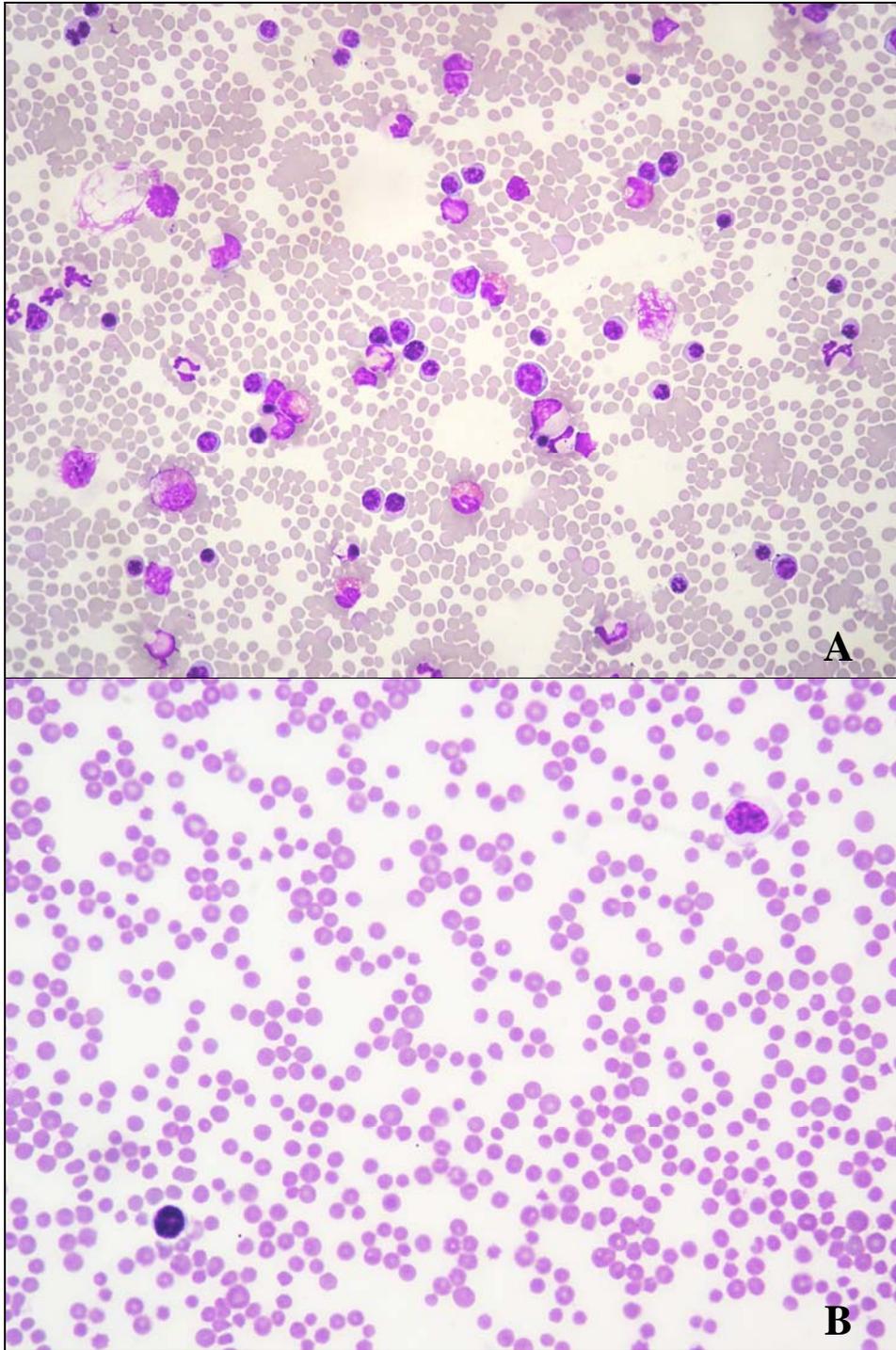


Fig. 8. Esfregaços realizados a partir dos aspirados por agulha fina realizada em bovinos utilizados no experimento de intoxicação experimental aguda por *Pteridium aquilinum*. A. Bovino 5 (controle) mostrando medula óssea normal. B. Bovino 3. mostrando ausência de células das três linhagens medulares, indicando aplasia de medula óssea. Panótico, obj.40x.

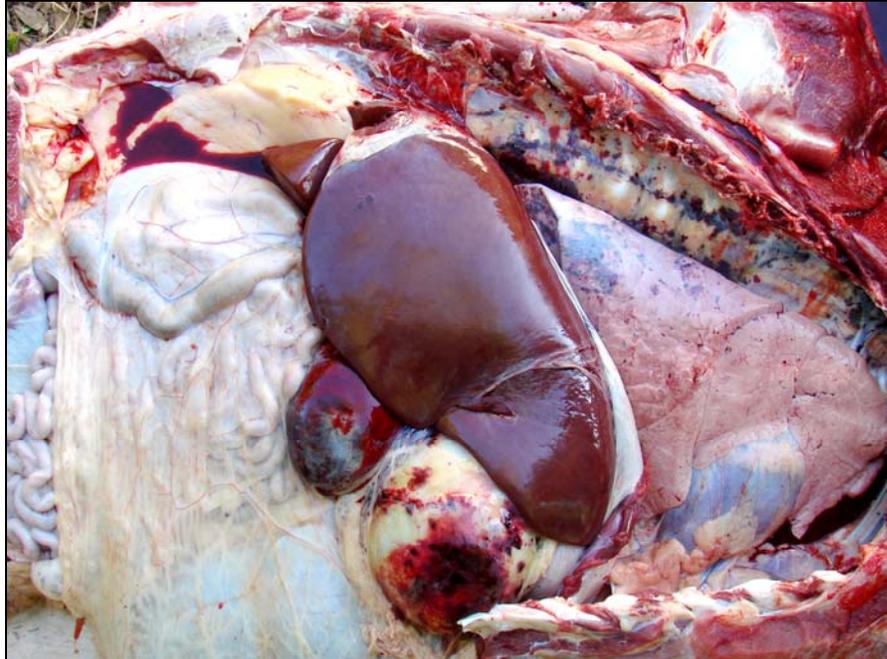


Fig. 9. Hemorragias em várias serosas das cavidades abdominal e torácica do Bovino 2 na intoxicação experimental aguda por *Pteridium aquilinum*. Observam-se principalmente hemorragias na serosa do omaso, na parede da vesícula biliar, no lobo diafragmático do pulmão e na pleura parietal ao longo das vértebras.

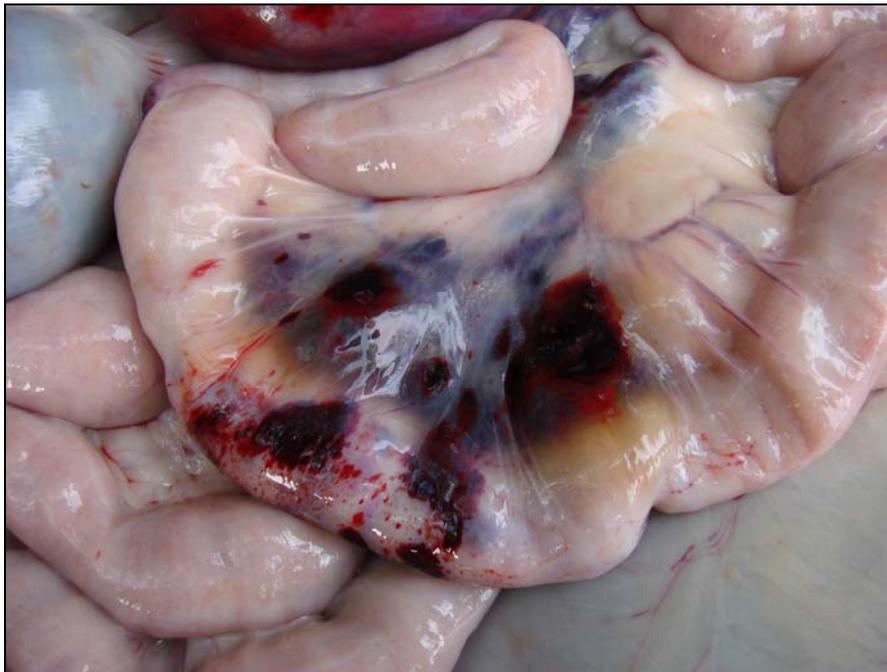


Fig. 10. Hemorragias na parede do intestino e no mesentério do Bovino 4 na intoxicação experimental aguda por *Pteridium aquilinum*.



Fig. 11. Hemorragia na mucosa intestinal sobre uma placa de Peyer do Bovino 4 na intoxicação experimental aguda por *Pteridium aquilinum*. Essas hemorragias eram, na maioria das vezes, transmurais correspondiam a hemorragias de mesma localização na parede e serosa do órgão (ver Fig. 10).



Fig. 12. Grande coágulo de sangue na porção pilórica do abomaso do Bovino 3 na intoxicação experimental aguda por *Pteridium aquilinum*.



Fig. 13. Grande coágulo de sangue no ceco Bovino 1 na intoxicação experimental aguda por *Pteridium aquilinum*.

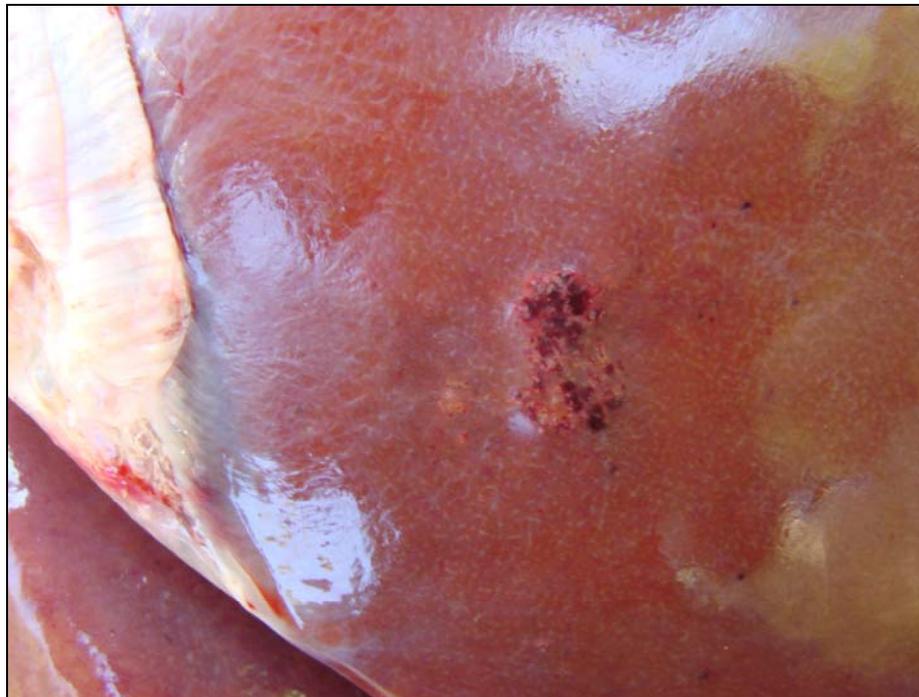


Fig. 14. Infarto firme, com áreas brancacentas e entremeado por hemorragia no fígado do Bovino 2, na intoxicação na intoxicação experimental aguda por *Pteridium aquilinum*.

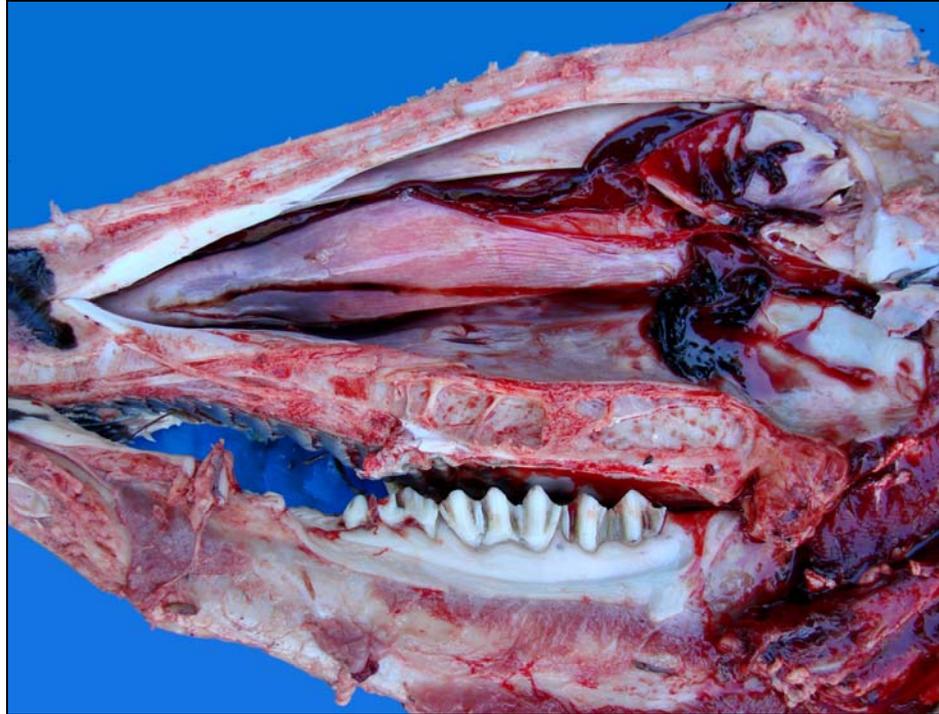


Fig. 15. Coágulos de sangue nos seios nasais do e nos cornetos do Bovino 3, na intoxicação experimental aguda por *Pteridium aquilinum*.

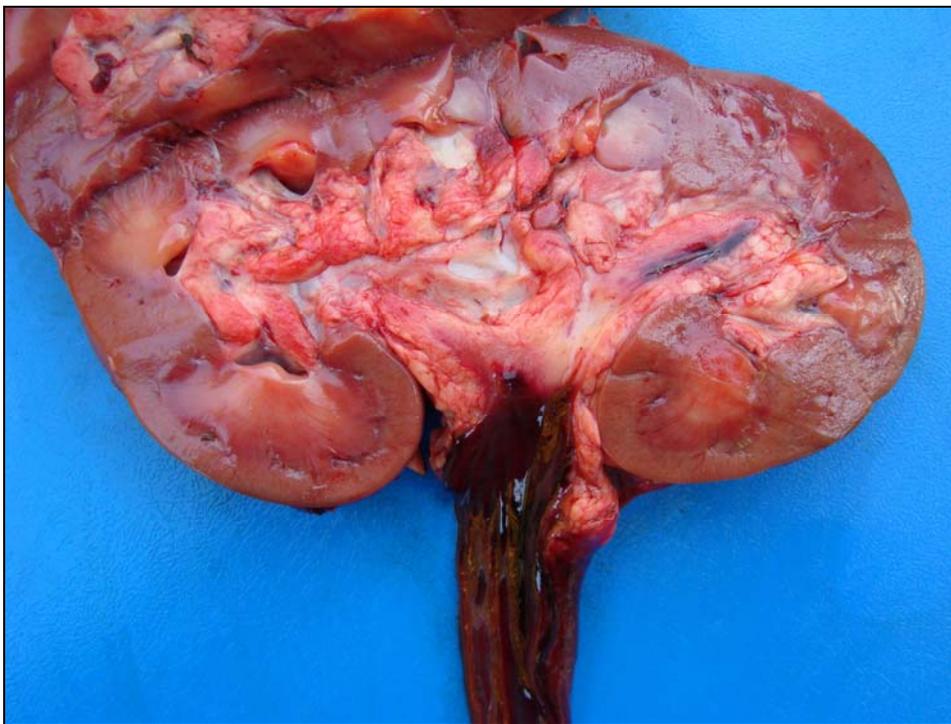


Fig. 16. Hemorragia nos cálices renais que se estende até os ureteres do Bovino 1, na intoxicação experimental aguda por *Pteridium aquilinum*.

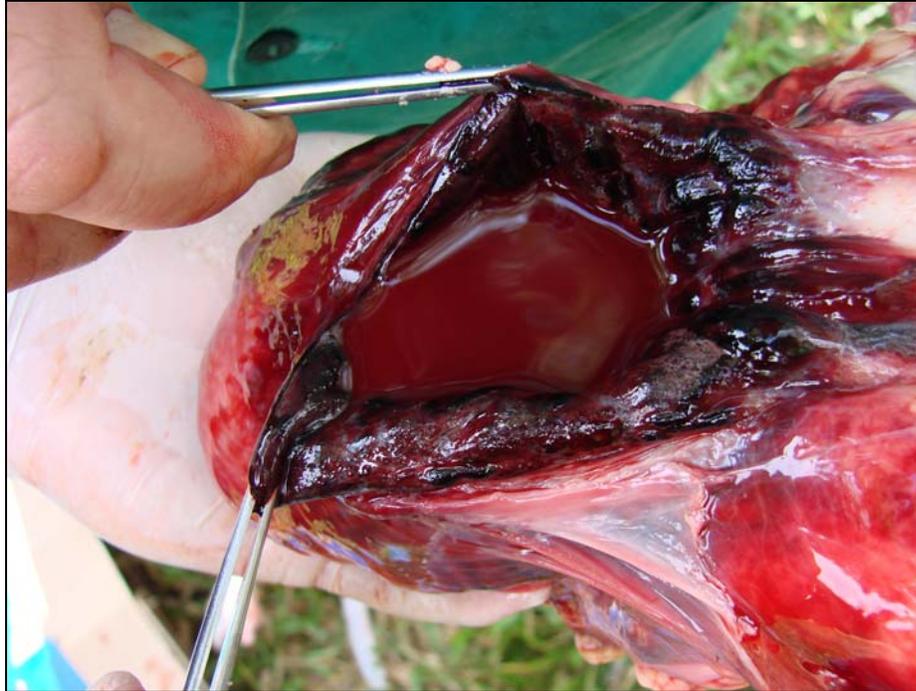


Fig. 17. Urina com sangue na bexiga do Bovino 4 na intoxicação experimental aguda por *Pteridium aquilinum*.



Fig. 18. Bexiga do Bovino 3 na intoxicação experimental aguda por *Pteridium aquilinum*. A mucosa vesical e os tecidos subjacentes estão acentuadamente edemaciados e hemorrágicos.



Fig. 19. Testículo do Bovino 4 na intoxicação experimental aguda por *Pteridium aquilinum*.
Observam-se hemorragias multifocais distribuídas por todo o parênquima testicular.



Fig. 20. Hemartrose na articulação carpometacárpica direita do Bovino 3 na intoxicação experimental aguda por *Pteridium aquilinum*.

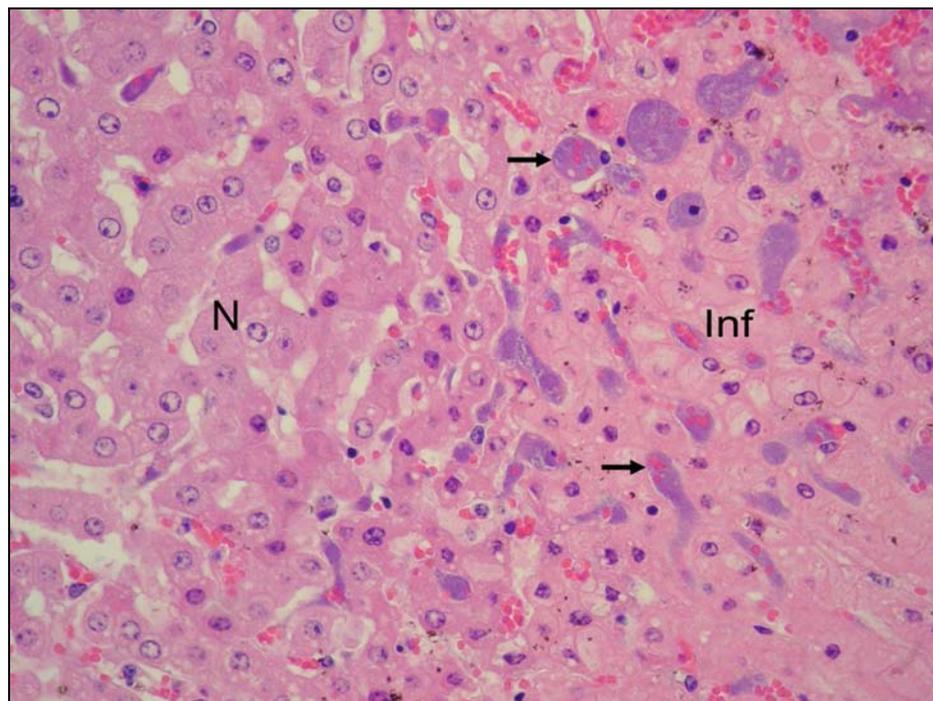


Fig. 21. Histopatologia do infarto no fígado do Bovino 2 na intoxicação experimental aguda por *Pteridium aquilinum*. Observa-se área de parênquima normal (N) separada de área de necrose de coagulação (Inf). Na zona de interface entre as duas áreas há miríades de bactérias (setas). Hematoxilina e eosina, obj. 40x.

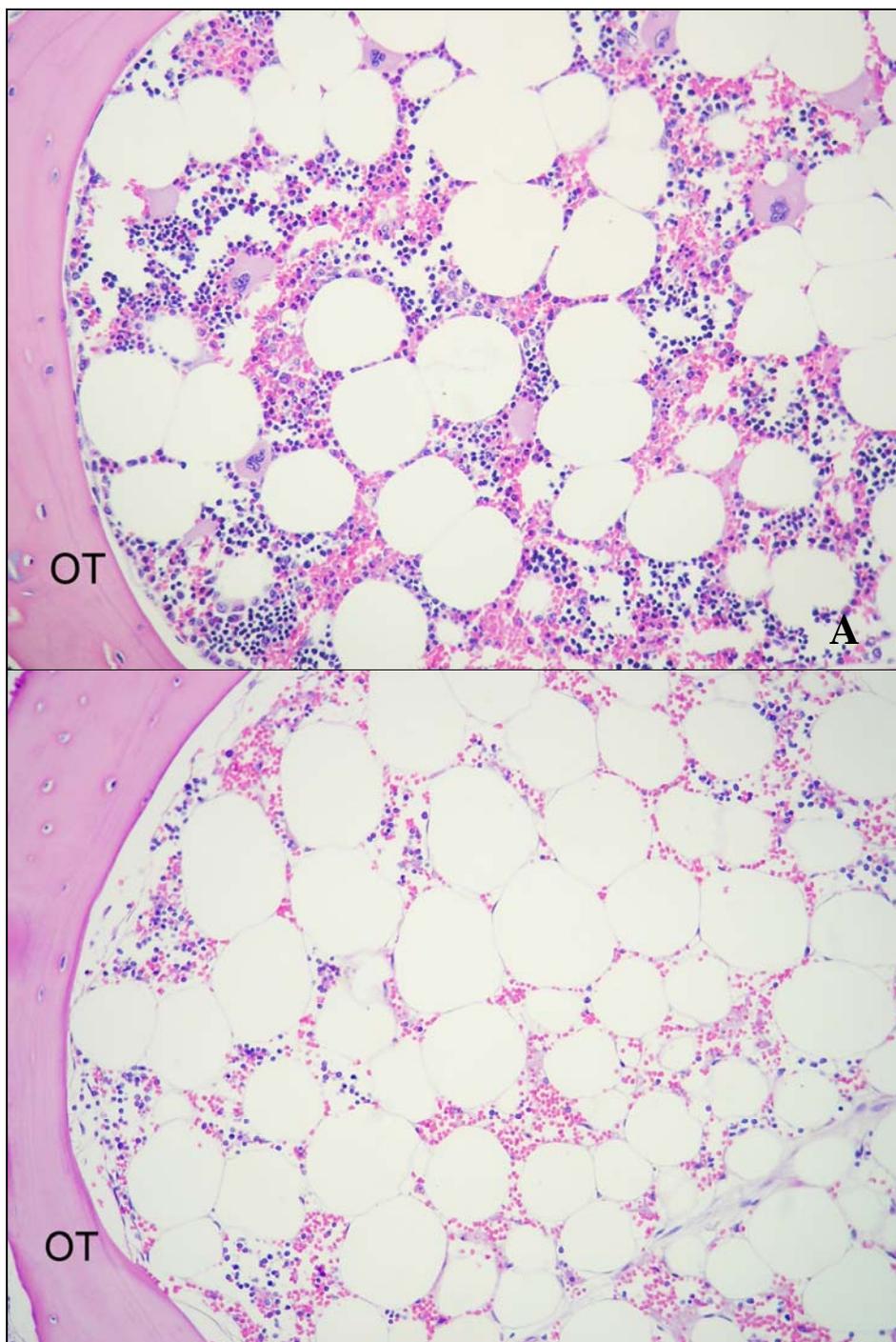


Fig. 22. Histopatologia da medula óssea de dois bovinos utilizados no experimento de intoxicação experimental aguda por *Pteridium aquilinum*. OT = osso trabecular Hematoxilina e eosina, obj. 20x. **A.** Bovino 5 (controle) mostrando medula óssea normal. **B.** Bovino 3 mostrando acentuada aplasia de medula óssea.

5 DISCUSSÃO

A intoxicação espontânea aguda por samambaia em bovinos ocorreu na forma de casos isolados ou pequenos surtos com taxas de morbidade entre 12,5% e 21,5%, principalmente nos meses de primavera e verão, e coincidiu com épocas de escassez de forragem. Condições semelhantes haviam sido descritas na literatura (BOSSHART; HAGAN, 1920; TOKARNIA et al., 1967, BARROS et al., 1987).

É descrito na literatura que, em geral, são necessárias quantidades da planta iguais ou superiores a 10 g/kg de peso, por 2-11 semanas (GLESSON, 1944; CARPENTER et al., 1950; EVANS, 1954b; NAFTALIN; CUSHNIE, 1954b; KITAHARA, 1974) para produzir os sinais clínicos da intoxicação aguda por samambaia. Nos bovinos dos nossos experimentos, a maior quantidade de planta ingerida correspondeu a 63,3% do peso do bovino e as doses médias diárias variaram entre 8-10,5 g/kg por até 58 dias.

Os bovinos intoxicados espontaneamente apresentaram febre de até 42°C e nos casos experimentais a febre atingiu 42,5°C. A febre alta é considerada um dos sinais clínicos mais marcantes da doença (STOCKMAN, 1917; BODDIE, 1947; TOKARNIA et al., 1967). Além da febre a doença apresentada pelos bovinos deste estudo cursou em geral com apatia, salivação exacerbada, epistaxe, gengivorragia, ulcerações nas narinas, palidez das mucosas, petéquias multifocais na pele e nas mucosas oculares, oral, vulvar e no prepúcio e andar cambaleante, bem como, fezes fétidas, enegrecidas devido a grande quantidade de sangue. Sinais clínicos semelhantes haviam sido descritos anteriormente na intoxicação aguda por *P. aquilinum* em bovinos (OSEBOLD, 1951; SIPPEL, 1952; EVANS et al., 1954a,b; NAFTALIN; CUSHNIE, 1954a,b; TUSTIN et al., 1968). O quadro clínico descrito para os casos espontâneos culminou em morte com até dois dias após a observação dos primeiros sinais clínicos. Experimentalmente, a morte ocorreu de 6-7 dias após o início da ingestão.

Duas formas de apresentação clínica, **entérica** e **laríngea**, são descritas para intoxicação aguda por samambaia em bovinos (FLETCHER, 1944; SIPPEL, 1952; EVANS et al., 1954a). A forma laríngea não havia ainda sido associada aos casos espontâneos de intoxicação aguda por *P. aquilinum* em bovinos descritos no Brasil. Os sinais clínicos de dispnéia e ronco, característicos da forma laríngea, devem ser considerados como indicativo no diagnóstico da intoxicação aguda por samambaia em bovinos. No entanto, acreditamos que seja arbitrário e artificial dividir a doença em duas formas ou dois tipos, pois os sinais clínicos se sobrepõem.

A lesão primária da intoxicação aguda por *P. aquilinum* nos bovinos deste estudo foi a grave aplasia de medula óssea que resulta em trombocitopenia e leucopenia associada a lesões hemorrágicas em variados órgãos. A lesão aplásica da medula óssea é semelhante à observada em casos de anemia aplásica por irradiação (YOUNG, 2002), o que explica as hemorragias na forma de petéquias e sufusões, típicos de déficit na hemostasia primária. Os quatro bovinos intoxicados no experimento demonstraram claras evidências hematológicas de aplasia medular, mas apenas dois demonstraram anemia leve, o que indica que, nesses casos, a anemia decorre muito mais da perda dos eritrócitos do que da falha na sua produção (VALLI, 2007).

Distúrbios na hemostasia secundária foram inicialmente cogitados (ANJOS et al., 2008) na patogênese das hemorragias na intoxicação aguda por *P. aquilinum* em bovinos. Porém, os resultados dos tempos de coagulação (TP e TPPA) obtidos no experimento com bovinos não demonstraram variações significativas, sugerindo que a hemostasia secundária não esteja envolvida na patogênese da doença.

Klebsiella oxytoca, *Staphylococcus hyicus* e *S. aureus* foram isolados do sangue de três dos quatro bovinos experimentais, indicando que a septicemia, facilitada pela neutropenia, provavelmente esteja relacionada com os infartos observados na doença e pode ter participação na causa da morte de bovinos. Esses isolados são descritos como importantes agentes em doenças septicêmicas, tanto em animais domésticos como em humanos (BIBERSTEIN et al., 1984; ANGUS et al., 2001).

Como visto nos quatro bovinos do estudo experimental, lesões necróticas e ulcerativas e não-neoplásicas da bexiga podem também produzir hematúria na intoxicação aguda. Esse sinal clínico já havia sido descrito associado a casos espontâneos de intoxicação aguda por samambaia em bovinos (BOSSHART; HAGAN, 1920; GLESSON, 1944).

6 CONCLUSÕES

- Na Região Central do Rio Grande do Sul, a intoxicação aguda por *Pteridium aquilinum* em bovinos ocorre na principalmente na primavera e verão, tanto em forma de surtos com morbidade média de 17,9% quanto na forma de casos isolados.
- Bovinos morrem com a forma aguda da intoxicação por *P. aquilinum* após ingerirem 63,3% de seu peso corporal em planta verde por até 58 dias.
- Trombocitopenia e neutropenia acentuadas e a febre alta são dados auxiliares importantes para o diagnóstico da intoxicação aguda por *P. aquilinum* em bovinos.
- Após quatro semanas de ingestão de *P. aquilinum*, bovinos aparentemente saudáveis já demonstram trombocitopenia significativa que possivelmente seja irreversível.
- Apenas eventos da hemostasia primária são responsáveis pelas hemorragias agudas por *P. aquilinum* em bovinos.
- A septicemia, facilitada pela neutropenia, tem participação no desenvolvimento dos infartos e pode contribuir para a morte de bovinos na intoxicação aguda pela ingestão de *P. aquilinum*.
- A hematúria e os sinais clínicos da chamada forma laríngea sugerem o diagnóstico de intoxicação aguda por *P. aquilinum* em bovinos.

REFERÊNCIAS

ANGUS, D. C. et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. **Critical Care Medicine**, Illinois, v. 29, p. 1303-1310, 2001.

ANJOS, B. L. et al. Intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos na Região Central do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, p. 501-507, 2008.

ANÔNIMO. Fern Poisoning. **Journal of Comparative Pathology and Therapeutics**, England, v. 7, p. 65-167, 1984.

BARROS, C. S. L. et al. Intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos no Rio Grande do Sul. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 7, p. 333-339, 1987.

BASILE, J. R.; REIS, A. C. F.; GASTE, L. Intoxicação aguda de bovinos pela samambaia (*Pteridium aquilinum*) L. Kuhn) no Estado do Paraná. **Revista do Setor de Ciências Agrárias**, Curitiba, v. 3, p. 167-170, 1981.

BENESI, F. J. et al. Avaliação de um surto de intoxicação aguda causado pela ingestão de samambaia (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) em bovinos criados em Paraibuna, SP. Aspectos clínico-hematológicos. In: CONGR. MUNDIAL DE BUIATRIA, 16., 1990, Salvador, **Anais...**, Salvador, 1990. p. 13-17.

BIBERSTEIN, E. L.; JANG, S. S.; HIRSH, D. C. Species distribution of coagulase-Positive staphylococci in animals. **Journal of Clinical Microbiology**, United States, v. 19, p. 610-615, 1984.

BODDIE, G. F. Toxicological problems in veterinary practice. **The Veterinary Record**, London, v. 59, p. 470-479, 1947.

BORELLI, V. et al. Intoxicação por plantas diagnosticadas em bovinos pelo laboratório de patologia animal CAV/UEDESCS no período de janeiro de 2000 a abril de 2008. In: ENCONTRO NACIONAL DE DIAGNÓSTICO VETERINÁRIO, 2., 2008, Campo Grande, **Anais...**, Campo Grande, 2008. p. 59-60.

BOSSHART, J. K.; HAGAN, W. A. A fatal unidentified disease of cattle in New York State. **The Cornell Veterinarian**, Ithaca, v. 10, p. 102-113, 1920.

BRITO, M. F. et al. Sobre um surto de envenenamento por derivado de dicumarínico em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 25, p. 143-149, 2005.

CAMPO, M. S. Animal models of papillomavirus pathogenesis. **Virus Research**, Netherlands, v. 89, p. 249-261, 2002.

CAMPO, M. S. et al. Association of bovine papillomavirus type 2 and bracken fern with bladder cancer in cattle. **Cancer Research**, United States, v. 52, p. 6898-6904, 1992.

CARPENTER, K. J. et al. Experiments with dried bracken (*Pteris aquilina*). **The British Veterinary Journal**, London, v. 106, p. 292-308, 1950.

CLARK, I. A.; DIMMOCK, C. K. The toxicity of *Cheilanthes sieberi* to cattle and sheep. **Australian Veterinary Journal**, New South Wales, v. 47, p. 149-152, 1971.

CLAY, A. L. Rock fern is a cattle killer. **Queensland Agriculture Journal**, Brisbane, v. 95, p. 742, 1969.

CRAIG, J. F.; DAVIES, G. C. Some observations on bracken poisoning. **The Veterinary Record**, London, v. 52, p. 499, 1940.

CRAIG, J. F.; KEHOE, D. Plant Poisoning. **The Veterinary Record**, London, v. 5, p. 795-825, 1925.

DÖBEREINER, J. et al. Ocorrência de hematúria enzoótica e de carcinomas epidermóides no trato digestivo superior em bovinos no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 2, p. 489-504, 1967.

EVANS, I. A. The radiomimetic nature of bracken toxin. **Cancer Research**, United States, v. 28, p. 2252- 2261, 1968.

EVANS, W. C. Bracken poisoning of farm animals. **The Veterinary Record**, London, v. 76, p. 365-372, 1964.

EVANS W. C. et al. Studies on bracken fern in cattle. Part I. **The British Veterinary Journal**, London, v. 110, p. 295-306, 1954a.

EVANS, W. C. et al. Studies on bracken fern in cattle. Part II. Bracken fern experiments (Lluest farm). **The British Veterinary Journal**, London, v. 110, p. 365-380, 1954b.

EVANS, W. C. et al. Studies on bracken poisoning. Part III. Field outbreaks of bovine bracken poisoning. **The British Veterinary Journal**, London, v. 110, p. 426-442, 1954c.

FELDMAN, B. F. et al. **Schalm's veterinary hematology**. 5th. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 1344p.

FENWICK, G. R. Bracken (*Pteridium aquilinum*) - Toxin effects and toxic constituents. **Journal of the science of food and agriculture**, England, v. 46, p. 147-173, 1988.

FIGHERA, R. A. **Anemia em Medicina Veterinária**. Santa Maria, O autor. 2001. 214p.

FLETCHER, J. Bracken poisoning in cattle. **The Veterinary Record**, London, v. 56, p. 478, 1944.

FRANÇA, T. C.; TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V. Enfermidades determinadas pelo princípio radiomimético de *Pteridium aquilinum* (Polypodiaceae). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 22, p. 85-96, 2002.

FREITAS, R. N. et al. 32P-postlabeling analysis of DNA adducts in tissues obtained from rats treated with bracken fern (*Pteridium aquilinum* subsp. *caudatum*) from Brazil. In: INTERNAT. BRACKEN GROUP CONF. - BRACKEN FERN: TOXICITY, BIOLOGY AND CONTROL, 4., 1999, Manchester. **Anais...** Manchester, 1999. p. 132-135.

GABRIEL, A. L. **Aspectos epidemiológicos, clínicos e lesões vesicais da intoxicação crônica espontânea por *Pteridium aquilinum* em bovinos**. 2008. 104 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

GAVA, A.; BARROS, C. S. L. Intoxicação por polpa cítrica. In: RIET-CORREA F. et al. (Ed.) **Doenças de Ruminantes e Eqüídeos**. 3. ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. v. 2, p. 90-94.

GAVA, A. et al. Bracken fern (*Pteridium aquilinum*) poisoning in cattle in Southern Brazil. **Veterinary and Human Toxicology**, United States, v. 44, p. 362-365, 2002.

GLEESON, L. Suspected bracken poisoning. **The Veterinary Record**, London, v. 56, p. 374, 1944.

- HAGAN, W. A. Bracken poisoning in cattle. **The Cornell Veterinarian**, Ithaca, v. 15, p. 326-332, 1925.
- HAGAN, W. A. Further study of the etiology of an undiagnosed disease of cattle. **The Cornell Veterinarian**, Ithaca, v. 12, p. 43-54, 1922.
- HAGAN, W. A.; ZEISSIG A. Experimental bracken poisoning of cattle. **The Cornell Veterinarian**, Ithaca, v. 17, p. 194-208, 1927.
- HIRONO I. et al. Carcinogenic activity of processed bracken used as human food. **Journal of the National Cancer Institute**, United States, v. 48, p. 1245-1250, 1972.
- HIRONO, I. et al. Reproduction of acute bracken poisoning in a calf with ptaquiloside, a bracken constituent. **The Veterinary Record**, London, v. 115, p. 375-378, 1984.
- JARRETT, W. F. H. et al. High incidence area of cattle cancer with a possible interaction between an environmental carcinogen and a papillomavirus. **Nature**, England, v. 274, p. 215-217, 1978.
- KITAHARA, T. Experimental studies on bracken poisoning in cattle. **Bulletin of the Nippon Veterinary and Zootechnique**, Tokyo, v. 23, p. 88-107, 1974.
- MARÇAL, W. S. A intoxicação por samambaia em bovinos no estado do Paraná. **Semina: Ciências Agrária**, Londrina, v. 24, p. 197-208, 2003.
- MARÇAL, W. S. et al. Intoxicação aguda pela samambaia (*Pteridium aquilinum*, L. Kuhn), em bovinos da raça aberdeen angus. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 7, p. 77-81, 2002.
- MARTINI-SANTOS, B. J. et al. Ocorrência de intoxicação aguda em bovinos pela samambaia (*Pteridium aquilinum*, L. Kuhn) na Serra da Mantiqueira, Visconde de Mauá, RJ. In: CONBRAVET- CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35., 2008, Gramado, **Anais...**, Gramado, 2008.
- MASUDA, E. K. **Morfologia e imunoistoquímica dos carcinomas de células escamosas alimentares associados ao consumo de *pteridium aquilinum* em bovinos**. 2007. 126 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

NAFTALIN, J. M.; CUSHNIE, G. H. Pathology of bracken poisoning in cattle. **Journal Comparative Pathology and Therapeutics**, England, v. 64, p. 54-74, 1954a.

NAFTALIN, J. M.; CUSHNIE, G. H. The experimental bracken fern poisoning in calves. **Journal Comparative Pathology and Therapeutics**, England, v. 64, p. 75-86, 1954b.

OSEBOLD, J. W. An approach to the pathogenesis of fern poisoning in the bovine species. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 121, p. 440-441, 1951.

PARKER, W. H.; McCREA, C. T. Bracken (*Pteris aquilina*) poisoning of sheep in the north York moors. **The Veterinary Record**, London, v. 77, p. 861-866, 1965.

PEIXOTO, P. V., et al. Aspectos histopatológicos da hematuria enzoótica bovina no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 23, p. 65-81, 2003.

PENBERTHY, J. Vegetable poisoning (?) simulating anthrax in cattle. **Journal Comparative Pathology and Therapeutics**, England, v. 6, p. 276-279, 1893.

PRITCHARD, W. R.; REHEFELD, C. E.; SAUTTER, J. H. Aplastic anemia of cattle associated with ingestion of trichloroethylene-extracted soybean oil meal (Stockeman disease, Duren disease, Brabant disease) I. Clinical and Laboratory Investigation of field cases. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 121, p. 1-9, 1952.

RIET-CORREA, F.; MENDEZ, M. D. C. Intoxicações por plantas e micotoxinas. In: RIET-CORREA F. et al. (Ed.) **Doenças de ruminantes e eqüídeos**. 3. ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. v. 2, cap. 2, p. 99-221.

RISSI, D. R. et al. Intoxicação por plantas e micotoxinas associadas a plantas em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 27, p. 261-268, 2007.

SHEARER, G. D. Some observations on the poisonous properties of bracken (*Pteris aquilina*). **Journal Comparative Pathology and Therapeutics**, England, v. 55, p. 301-307, 1947.

SIPPEL, W. L. Bracken fern poisoning. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 121, p. 9-13, 1952.

- SOUTO, M. A. M. et al. Neoplasias do trato alimentar superior de bovinos associadas ao consumo espontâneo de samambaia (*Pteridium aquilinum*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 26, p. 112-122, 2006a.
- SOUTO, M. A. M. et al. Neoplasmas da bexiga associados à hematúria enzoótica bovina. **Ciência Rural**, v. 36, p. 1647-1650, 2006b.
- SOUZA, M. V.; GRAÇA, D. L. Intoxicação crônica por *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn (Polypodiaceae) em bovinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 23, p. 203-207, 1993.
- STAMP, J. T. A review of bracken poisoning in cattle. **Journal of British Grassland Society**, Oxford, v. 2, p. 191-194, 1947.
- STOCKMAN, S. Bracken Poisoning in Great Britain. **Journal Comparative Pathology and Therapeutics**, England, v. 30, p. 311-316, 1917.
- STOCKMAN, S. Bracken Poisoning in Great Britain. **Journal Comparative Pathology and Therapeutics**, England, v. 35, p. 273-275, 1922.
- STORRAR, D. M. Cases of vegetable poisoning in cattle. **Journal Comparative Pathology and Therapeutics**, England, v. 6, p. 276-279, 1893.
- SUNDERMAN, F. M. Bracken poisoning in sheep. **Australian Veterinary Journal**, Australia, v. 64, p. 25-26, 1987.
- THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. 582 p.
- TOKARNIA, C. H. et al. Ocorrência da intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) em bovinos no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 2, p. 329-336, 1967.
- TOKARNIA, C. H. et al. Ocorrência de hematúria enzoótica e de carcinomas epidermóides no trato digestivo superior em bovinos no Brasil. Part I. Estudos complementares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 4, p. 209-224, 1969.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Poisonous plants affecting livestock in Brazil. **Toxicon**, England, v. 40, p. 1635-1660, 2002.

TUSTIN, R. C. et al. Bracken fern poisoning in cattle in Natal Midlands. **Journal of South African Veterinary Medical Association**, Pretoria, v. 39, p. 91-99, 1968.

VALLI, V. E. O. Hematopoietic system. In: MAXIE, M.G. (Ed.). **Jubb, Kennedy, and Palmer's - Pathology of domestic animals**. 5th ed. Philadelphia: Elsevier, 2007. v. 3, p. 107-324.

YOUNG, N. S. Acquired aplastic anemia. **Annals of Internal Medicine**, United States, v. 136, p. 534-546, 2002.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)