

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS

DISSERTAÇÃO

**Ocorrência de Hematúria Enzoótica e Neoplasias do Trato Alimentar Superior
em Búfalos no Brasil**

Juliana Ferreira Rocha Mello

2020



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS**

**OCORRÊNCIA DE HEMATÚRIA ENZOÓTICA E NEOPLASIAS DO
TRATO ALIMENTAR SUPERIOR EM BÚFALOS NO BRASIL**

JULIANA FERREIRA ROCHA MELLO

Sob a Orientação do Professor
Paulo Vargas Peixoto

e Co-orientação da Professora
Ticiano do Nascimento França

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Veterinária, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia e Ciências Clínicas.

Seropédica, RJ
Setembro de 2020

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)

JULIANA FERREIRA ROCHA MELLO

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia Animal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 24/09/2020.

Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG, de 30/06/2020, tendo em vista a implementação de trabalho remoto e durante a vigência do período de suspensão das atividades acadêmicas presenciais, em virtude das medidas adotadas para reduzir a propagação da pandemia de Covid-19, nas versões finais das teses e dissertações as assinaturas originais dos membros da banca examinadora poderão ser substituídas por documento(s) com assinaturas eletrônicas. Estas devem ser feitas na própria folha de assinaturas, através do SIPAC, ou do Sistema Eletrônico de Informações (SEI) e neste caso a folha com a assinatura deve constar como anexo ao final da tese / dissertação.



Emitido em 30/11/2020

TERMO Nº 470/2020 - PPGMV (12.28.01.00.00.00.51)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 30/11/2020 18:16)

SAULO ANDRADE CALDAS
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptMCV (12.28.01.00.00.00.53)
Matrícula: 2929022

(Assinado digitalmente em 29/01/2021 10:31)

ALDO GAVA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 168.987.290-04

(Assinado digitalmente em 07/01/2021 11:09)

PAULO FERNANDO DE VARGAS PEIXOTO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 270.761.210-34

(Assinado digitalmente em 30/11/2020 10:56)

PEDRO BEZERRA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 025.625.237-84

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número:
470, ano: **2020**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **30/11/2020** e o código de verificação: **6e26ead13a**

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M 527o Mello, Juliana Ferreira Rocha, 1991-
Ocorrência de hematúria enzoótica e neoplasias do
trato alimentar superior em búfalos no Brasil /
Juliana Ferreira Rocha Mello. - Seropédica, 2020.
117 f.: il.

Orientador: Paulo Vargas Peixoto.
Coorientadora: Ticiano do Nascimento França.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária, 2020.

1. Hematúria Enzoótica. 2. Neoplasias do trato
alimentar superior. 3. Tumores em búfalos. 4.
Samambaia. 5. Pteridium esculentum subsp.
arachnoideum. I. Peixoto, Paulo Vargas , 1958-,
orient. II. França, Ticiano do Nascimento , 1974-,
coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Medicina
Veterinária. IV. Título.

DEDICATÓRIA

À minha família!
Ao Marco, meu companheiro,
pela compreensão e amor de sempre
e à Maria Fernanda, minha amada filha,
pelas horas que lhe foram roubadas!

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, agradeço a **Deus** por sempre abençoar minha vida, me dar forças nos momentos difíceis e colocar pessoas especiais no meu caminho. Aos meus pais, **Hailton** e **Maria Lucia**, minha base, meus exemplos de honestidade, caráter e garra, foram eles que sempre me ensinaram e incentivaram a trabalhar e lutar pelos meus objetivos. Aos meus irmãos, **Douglas** e **Júlia**, por todo amor e carinho. Aos demais familiares, tios e tias, primos e primas, em especial, agradeço aos tios **Sérgio** e **João Lúcio**, por todas as oportunidades e incentivos profissionais que me foram dados ao longo desses anos.

Um agradecimento especial ao meu marido, **Marco**, que sempre foi meu companheiro, amigo, confidente, conselheiro, sempre esteve ao meu lado, me dando todo o suporte e apoio nas minhas escolhas. Esteve comigo desde o início da minha vida acadêmica, sendo meu tutor e incentivando o início da minha carreira profissional. Juntos, construímos uma linda família, a família que sempre sonhei e do nosso amor nasceu há pouco mais de um ano o bem mais precioso que tenho na minha vida, nossa amada filha, **Maria Fernanda**. Minha filha querida que esteve comigo desde as visitas e coletas de campo, no laboratório, no estudo e elaboração da dissertação em casa, peço perdão por minha ausência em alguns momentos, mas agradeço mais uma vez todo o suporte e carinho dado pelo papai.

Às pessoas que fizeram parte dessa trajetória de dois anos e sete meses de mestrado, não poderiam deixar de serem mencionadas e feitos os devidos agradecimentos:

Prof. Paulo Peixoto, meu orientador e grande mestre, exemplo de profissional, médico veterinário, patologista, professor e amigo. Sempre esteve presente e disposto a ajudar e ensinar. Agradeço por todos ensinamentos e orientação profissional desses últimos cinco anos (desde a iniciação científica em 2015). Além de toda a compreensão, atenção e cuidado com as minhas questões pessoais, principalmente pelos momentos difíceis que passei durante o mestrado, serei eternamente agradecida!

Profa. Ticiania, minha co-orientadora e amiga, agradeço por todos os ensinamentos, conselhos e atenção que me foram dados ao longo desses anos de aluna da veterinária, estagiária do SAP, iniciação científica e mestrado.

Alexandre Galvão, exemplo de veterinário de campo que tive o privilégio de ser estagiária durante a graduação e no mestrado foi fundamental para o desenvolvimento e coleta de dados da nossa pesquisa. Agradeço por todos os ensinamentos, ajuda, conselhos e amizade.

Bartolomeu, meu grande amigo e companheiro de mestrado, não tenho palavras para agradecer tudo que fez por mim nesses últimos anos. Você é um exemplo de pessoa e profissional, de humildade e bondade. Esteve ao meu lado do início ao fim, das visitas ao Sertão da Onça às coletas nos matadouros, do processamento do material à leitura das lâminas, de todo o suporte com a histopatologia, classificações e graduações até as escolhas das fotos da dissertação. Muito obrigada!

Gostaria também de agradecer à todos os colegas (estagiários, ICs, pós-graduandos, residentes, técnicos e professores) do **SAP/UFRRJ** por todos os momentos que dividimos e compartilhamos nesses últimos anos; ao colega, médico veterinário, **Tayson Marques** que me passou gentilmente todos os dados iniciais de sua pesquisa a campo sobre o tema; aos **produtores do Sertão da Onça/São José do Barreiro, SP** que me receberam em sua comunidade e dividiram comigo toda a sua experiência; aos **responsáveis técnicos do matadouro e frigoríficos** que permitiram realizar as coletas e ao **prof. David Driemeier** que viabilizou a realização do PCR.

À **Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)** e ao **Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (PPGMV)** pela formação.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)** - Código de Financiamento 001 pelo apoio na realização do presente trabalho.

RESUMO GERAL

ROCHA MELLO, Juliana Ferreira. **Ocorrência de hematúria enzoótica e neoplasias do trato alimentar superior em búfalos no Brasil.** 2020. 117f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Patologia e Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2020.

Plantas do gênero *Pteridium* spp. estão entre as plantas tóxicas mais importantes do mundo, dada sua distribuição cosmopolita e, principalmente, pelo seu alto potencial carcinogênico para animais e também para seres humanos. Na Região Sudeste, *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum*, planta conhecida popularmente como "samambaia" ou "samambaia do campo" é uma das plantas que causam maiores prejuízos econômicos na pecuária. O efeito carcinogênico se dá pela presença de um norsesquiterpeno denominado ptaquilosídeo, princípio tóxico de ação radiomimética, cuja ação pode variar em função da espécie animal, do tempo de ingestão e da quantidade diária ingerida. A ingestão de *Pteridium* spp. provoca um dos três diferentes quadros clínico-patológicos atribuídos à ação radiomimética da planta: Diátese Hemorrágica (DH), Hematúria Enzoótica (HE) e neoplasias do Trato Alimentar Superior (TAS), e comumente esses tipos de intoxicação são descritos sobretudo em bovinos. Até o momento, há raras referências sobre HE em búfalos. Em relação as neoplasias do TAS e DH não existiam relatos de ocorrência nessa espécie. Na Região Sudeste, pelo menos, a HE é a responsável pelo maior número de perdas, devidas não apenas ao óbito, mas também em função da queda de produtividade. Em São José do Barreiro/SP, há aproximadamente 13 anos, alguns produtores de áreas com alta incidência dessa doença, vêm substituindo os bovinos por búfalos, com base na premissa de que estes seriam mais resistentes à HE que o gado bovino. Embora, de acordo com observações iniciais, os búfalos realmente sejam menos sensíveis que os bovinos, ainda assim foi verificada a ocorrência de casos de hematúria concomitante com neoplasias do TAS nessa espécie. De acordo com o levantamento epidemiológico, essas enfermidades só ocorrem em búfalos com idade a partir de seis anos. Os três animais acompanhados no presente estudo, todavia, apresentavam bom estado nutricional e, à exceção de eliminarem sangue com a urina, aparentemente estavam saudáveis. Em relação à bexiga, verificou-se mucosa espessa, lesões ulceradas, multifocais, exofíticas, papiliformes, verrucosas, pedunculadas. Histologicamente foram observadas alterações neoplásicas e não neoplásicas semelhantes às descritas nos bovinos com HE. As lesões neoplásicas e não neoplásicas estavam presentes na base da língua, junto a tecidos anexos da orofaringe, laringe e esôfago e caracterizavam-se por múltiplos focos de lesões proliferativas exofíticas, pedunculadas em forma de couve-flor ou cone ("corno cutâneo-like"), bem como lesões circulares em placa, muitas vezes ulceradas. Dentre as neoplasias benignas foram encontrados papilomas e um fibroma. Em relação às malignas observaram-se carcinomas com diferenciação escamosa e carcinoma *in situ*. Descreve-se pela primeira vez a ocorrência de HE em búfalos no Brasil e faz-se o relato de neoplasias do TAS em búfalos.

Palavras-chave: *Pteridium arachnoideum*, samambaia, tumores.

GENERAL ABSTRACT

ROCHA MELLO, Juliana Ferreira. **Occurrence of enzootic hematuria and neoplasms of the upper digestive tract in buffaloes in Brazil.** 2020. 117f. Dissertation (Master Science in Veterinary Medicine, Pathology e Clinical Sciences). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2020.

Plants of the genus *Pteridium* spp. they are among the most important toxic plants in the world, given their cosmopolitan distribution and, mainly, for their high carcinogenic potential for animals and humans. In the Southeast Region, *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum*, a plant popularly known as "bracken fern" or "field bracken fern" is one of the plants that cause the greatest economic damage in livestock. The carcinogenic effect is due to the presence of a norsesquiterpene called ptakiloside, a toxic principle of radiomimetic action, whose action may vary depending on the animal species, the time of ingestion and the daily amount ingested. Ingestion of *Pteridium* spp. it causes different clinical-pathological conditions attributed to the plant's radiomimetic action: Hemorrhagic Diathesis (HD), Enzootic Hematuria (EH) and Upper Digestive Tract Neoplasms (UDT), and these types of poisoning are commonly described mainly in cattle. So far, there are rare references to EH in buffaloes. Regarding UDT and HD neoplasms, there were no reports of occurrence in this species. In the Southeast Region, at least, EH is responsible for the largest number of losses, due not only to death, but also due to the decrease in productivity. In São José do Barreiro/SP, for approximately 13 years, some farmers in areas with a high incidence of this disease have been replacing cattle with buffaloes, based on the premise that they would be more resistant to EH than cattle. Although, according to initial observations, buffaloes are actually less sensitive than cattle, nevertheless the occurrence of cases of hematuria concomitant with neoplasms of UDT in this species has been verified. According to the epidemiological survey, these diseases only occur in buffaloes over six years old. The three animals followed in the present study, however, had good nutritional status and, except for eliminating blood with urine, apparently were healthy. In relation to the bladder, there was a thickened mucosa, ulcerated, multifocal, exophytic, papilliform, verrucous, pedunculated lesions. Histologically neoplastic and non-neoplastic changes similar to those described in cattle with EH were observed. Neoplastic and non-neoplastic lesions were present at the base of the tongue, along with attached tissues of the oropharynx, larynx and esophagus and were characterized by multiple foci of exophytic proliferative lesions, pedunculated in the shape of cauliflower or cone ("cutaneous horn-like"), as well as circular plaque lesions, often ulcerated. Among benign neoplasms, papillomas and a fibroma were found. Regarding malignant ones, carcinomas with squamous differentiation and carcinoma in situ were observed. The occurrence of HE and UDT Neoplasms in Buffaloes in Brazil is described for the first time.

Keywords: *Pteridium arachnoideum*, bracken fern, tumors.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1	Aspectos Gerais e Históricos da Intoxicação por <i>Pteridium</i> spp.	3
2.2	Intoxicações por <i>Pteridium</i> spp. em Bubalinos	4
2.3	Formas da Intoxicação por <i>Pteridium</i> spp.	5
2.3.1	Diátese Hemorrágica (DH)	5
2.3.2	Hematúria Enzoótica (HE)	6
2.3.3	Neoplasias do Trato Alimentar Superior (TAS)	8
2.4	Vírus da Papilomatose e Neoplasias em Bovídeos	8
2.5	Controle e Profilaxia da Intoxicação por <i>Pteridium</i> spp	10
2.6	Referências Bibliográficas	12
3	CAPÍTULO I: OCORRÊNCIA DE HEMATÚRIA ENZOÓTICA EM BÚFALOS NO BRASIL.	18
4	CAPÍTULO II: NEOPLASIAS DO TRATO ALIMENTAR SUPERIOR EM BÚFALOS ASSOCIADAS À INGESTÃO DE <i>Pteridium esculentum</i> subsp. <i>arachnoideum</i> (Dennstaedtiaceae) NO BRASIL.	53
5	CAPÍTULO III: ENFERMIDADES EM BÚFALOS E BOVINOS CAUSADAS POR SAMAMBAIA NO ESTADO DE SÃO PAULO.	71
6	CONCLUSÕES GERAIS	87
	ANEXOS	88

1 INTRODUÇÃO GERAL

Plantas do gênero *Pteridium* spp. estão entre as plantas tóxicas mais importantes do mundo, dada sua distribuição cosmopolita e, principalmente, pelo seu alto potencial carcinogênico para animais e possivelmente também para seres humanos. Na Região Sudeste, *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum*, conhecida popularmente como "samambaia ou samambaia do campo" é uma das plantas que causam maiores prejuízos econômicos na pecuária. Nas áreas em que ocorre, é muito conhecida como invasora, porém, no Brasil, fora do meio acadêmico, muitos não sabem ou aceitam que essa planta tóxica seja uma das mais importantes para bovinos (TOKARNIA et al., 2012). O efeito carcinogênico se dá pela presença de um norsesquiterpeno denominado ptaquilosídeo, princípio tóxico radiomimético, cuja ação pode variar em função da espécie animal, do tempo de ingestão e da quantidade diária ingerida (HIRONO et al., 1984; HIRONO, 1990). Em bovinos, a ingestão de samambaia provoca um dos três diferentes quadros clínico-patológicos determinados pela ação radiomimética de *Pteridium* spp., isto é, Carcinomas das Vias Digestórias Superiores - CVDS (DÖBEREINER et al., 1967) - aqui descritos como **neoplasias do Trato Alimentar Superior (TAS)**, nova designação utilizada (GAVA et al., 2002; GABRIEL et al., 2009; MASUDA et al., 2011; SOUTO et al., 2006a; FACCIN et al., 2017; 2018), **Hematúria Enzoótica (HE)** (DÖBEREINER et al., 1967; TOKARNIA et al., 1969) e Diátese Hemorrágica (DH) (TOKARNIA et al., 1969), responsáveis por pesados prejuízos econômicos para pecuaristas no Brasil (TOKARNIA et al., 2012). A HE tem sido descrita sobretudo em bovinos, enquanto em búfalos há apenas escassas referências; até o momento, esta condição só havia sido relatada na Turquia, em Formosa, na Indonésia e na Índia (PAMUKCU, 1955; 1957; 1974; AYDIN; ÖZKUL, 1995; ÖZKUL; AYDIN, 1996; SOMVANSI et al., 2012; MAIOLINO et al., 2013; YÜCEL TENKECI et al., 2017). Em relação às neoplasias do TAS e DH não existem relatos de ocorrência em bubalinos.

Na Região Sudeste, a HE bovina é responsável por elevadas perdas econômicas, devidas não apenas ao óbito, mas também em função da queda de produtividade. Essa condição, verificada em muitas áreas altamente invadidas por *P. esculentum* subsp. *arachnoideum*, tem inviabilizado numerosas pequenas explorações ligadas à bovinocultura de leite, situação que redundando em migração de pequenos produtores que vendem suas pequenas propriedades - por impossibilidade de delas tirarem seu sustento - e são compelidos a instalarem-se na periferia de

idades próximas (GALVÃO; PEIXOTO, dados não publicados). No Município de São José do Barreiro/SP, há aproximadamente 13 anos, alguns produtores de áreas com alta incidência de HEB vêm substituindo os bovinos por búfalos, com base na premissa de que estes seriam mais resistentes à intoxicação que o gado bovino. Embora, de acordo com observações iniciais, os búfalos realmente sejam mais resistentes que os bovinos ao princípio tóxico de *Pteridium* spp., recentemente tem-se verificado a ocorrência de casos de hematúria nessa espécie (GALVÃO; MARQUES, dados não publicados). Dessa forma, por necessária, impõe-se investigação direcionada para caracterizar a intoxicação por *P. esculentum* subsp. *arachnoideum* em bubalinos em seus aspectos epidemiológicos e clínico-patológicos no Estado de São Paulo e em área limítrofe do Estado do Rio de Janeiro, bem como propor medidas profiláticas que visem minimizar os prejuízos dela decorrentes. Portanto, o presente trabalho tem como objetivo relatar a ocorrência de HE e neoplasias do TAS em búfalos no Brasil.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos Gerais e Histórico da Intoxicação por *Pteridium* spp.

Pteridium spp. é conhecida pelos nomes populares de “samambaia” ou “samambaia-do-campo”; no Acre é chamada de “pluma”, enquanto que em outras áreas, como norte do Estado do Rio de Janeiro, é conhecida como “feto” (TOKARNIA et al., 2012). A partir do ano 2000, o gênero *Pteridium*, anteriormente integrado a família Polypodiaceae, passou a pertencer à família Dennstaedtiaceae, e algumas variedades foram elevadas à condição de espécies, denominadas, a partir de então, *P. caudatum* e *P. arachnoideum* (THOMSON, 2000), no que se refere aos espécimes encontrados no Brasil. Atualmente, o nome mais aceito para o táxon *P. arachnoideum* é *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum* (Kaulf.) Thomson (THOMSON, 2012).

Plantas desse gênero são cosmopolitas; *P. esculentum* subsp. *arachnoideum* ocorrem principalmente nas regiões montanhosas e desenvolvem-se melhor em regiões frias com solos ácidos. As condições ecológicas geralmente favoráveis a surtos de intoxicação em bovinos são aquelas que causam a escassez de pastagem, por exemplo, condições climáticas adversas no final da primavera, como seca ou frio, ou o acesso de áreas restritas (EVANS et al., 1954; TOKARNIA et al., 2012).

Evans; Mason (1965) e Price; Pamukcu (1968) demonstraram a carcinogenicidade do *Pteridium* spp., em um experimento em que ratos alimentados com samambaia, desenvolveram múltiplos adenocarcinomas intestinais. Rosenberger; Heeschen (1960) comprovaram o efeito carcinogênico do *P. aquilinum* através da reprodução experimental de HE em bovinos alimentados com a planta por longo período. Após cinco anos, foi possível reproduzir as neoplasias de bexiga em bovinos e estabelecer o *P. aquilinum* como causa da Hematúria Enzoótica Bovina (HEB) (ROSENBERGER, 1965). Pamukcu e Price (1969) encontraram tumores de bexiga e um alto grau de malignidade em ratos alimentados com *P. aquilinum*.

Somente em 1984 foi estabelecido o princípio tóxico de ação radiomimética e carcinogênica do *P. aquilinum*, através do isolamento do ptaquilosídeo, um norsesquiterpeno (HIRONO et al., 1984).

No Brasil, os primeiros artigos publicados em relação à intoxicação pela "samambaia" (*Pteridium aquilinum*) datam de 1967 e 1969. A forma aguda foi descrita por Tokarnia et al.

(1967) nos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais, já a HE e os CVDS em bovinos foram descritas por Döbereiner et al. (1967) e Tokarnia et al. (1969) nos Estados do Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina.

2.2 Intoxicações por *Pteridium* spp. em Bubalinos

Os bubalinos podem ser susceptíveis à intoxicação por ingestão de plantas consideradas tóxicas para os bovinos, mas apresentam maior resistência ao efeito para algumas plantas (BASTIANETTO; BARBOSA, 2009). A *Palicourea juruana*, apesar de produzir quadros clínico-patológicos semelhante ao do bovino, apresenta dose letal para búfalos (entre 1 e 2 g/kg) superior a dose para bovinos (0,25 g/kg), ou seja, estabelece que o búfalo é pelo menos quatro vezes mais resistente (OLIVEIRA et al., 2004). Porém, em relação à intoxicação por *Ipomoea asarifolia*, o búfalo revelou-se tão sensível quanto o bovino, apenas com a única diferença nos sintomas de incoordenação apresentados, que foram menos acentuados nos bubalinos (BARBOSA et al., 2005).

Assim como em bovinos, existem relatos da presença de tumores de bexiga em búfalos na Turquia, em Formosa, na Indonésia e na Índia (PAMUKCU, 1955; 1957; 1974; AYDIN; ÖZKUL, 1995; ÖZKUL; AYDIN, 1996; SOMVANSI et al., 2012; MAIOLINO et al., 2013; YÜCEL TENKECI et al., 2017). Estas neoplasias estão associadas a HE crônica, decorrente da intoxicação por *Pteridium* spp. Pamukcu (1957) descreve que os tumores de bexiga em bovinos e bubalinos afetados com HE ocorreram principalmente na idade de 2 a 14 anos, porém não especifica a qual espécie está se referindo. Já em um levantamento realizado apenas com búfalos, na Turquia, a faixa etária oscilou entre 3 e 8 anos (YÜCEL TENKECI et al., 2017).

Recentemente, foi publicado um estudo na Turquia, no qual, realizou-se histopatologia e imunohistoquímica de lesões neoplásicas e não neoplásicas na bexiga de búfalos, associando-as com o consumo de *P. aquilinum* (YÜCEL TENKECI et al., 2017).

2.3 Formas da Intoxicação por *Pteridium* spp.

2.3.1 Diátese Hemorrágica (DH)

Em casos de intoxicação aguda por *P. aquilinum*, o prognóstico é grave, pois a maioria dos animais mais afetados morre dentro de alguns dias do aparecimento dos sinais clínicos, independentemente da idade (EVANS et al., 1954). Segundo Tokarnia et al. (1967), a doença é observada somente em animais que estiveram em pastos de "samambaia" durante várias semanas ou meses. Grande parte dos animais afetados tinha idade abaixo de dois anos.

O ptaquilosídeo presente em *P. aquilinum* tem ação radiomimética que destrói progressivamente a medula óssea, do que resulta na síndrome hemorrágica observada em bovinos (HIRONO et al., 1984; FENWICK, 1988).

Sippel (1952), conforme citado por França et al. (2002), descreve dois tipos de manifestação clínica na intoxicação aguda: o **tipo entérico** caracterizado por sinais clínicos de depressão, anorexia, hipertermia e pulso filiforme, mucosas hipocoradas e hiposfagma, epistaxe, episiorragia e hematoquezia; e o **tipo laríngeo**, em que os sinais clínicos incluem hiperpirexia, edema de laringe, dispneia e "ronqueira".

Em um estudo realizado na Região Central do Rio Grande do Sul (ANJOS et al., 2008), os sinais clínicos observados na intoxicação aguda por samambaia foram hipertermia (40-42°C), apatia, andar cambaleante, salivação, epistaxe, 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 pelos aglutinados por sangue. Frequentemente as fezes eram fétidas, enegrecidas e continham grande quantidade de sangue. Sangue na urina e, com menor frequência, no leite foi também relatado. Com o agravamento do quadro, ocorria taquicardia, taquipneia e, ocasionalmente, icterícia leve. O quadro clínico culminava com decúbito esternal e morte em até dois dias após a observação dos primeiros sinais clínicos. Os achados hematológicos mais importantes, em bovinos intoxicados experimentalmente por samambaia, foram leucopenia por neutropenia, anemia normocítica normocrômica e trombocitopenia (ANJOS et al., 2009).

Como achados de necropsia são relatadas hemorragias de intensidade variável em vários órgãos e "infartos" no fígado (ANJOS et al., 2008). Ao exame histopatológico são observadas hemorragias, focos de necrose no fígado, processos necrobióticos nos folículos linfoides no baço e rarefação do tecido hematopoiético na medula óssea (TOKARNIA et al., 1967). Segundo Anjos et al. (2009), no exame citopatológico e histopatológico da medula óssea observou-se

acentuada diminuição no número de células hematopoiéticas das três linhagens medulares, caracterizando insuficiência medular por aplasia.

2.3.2 Hematúria Enzoótica (HE)

Há muito tempo se sabe que os tumores urinários da bexiga de bovinos estão relacionados com a ingestão de samambaia e que esses tumores também ocorrem em bubalinos na Turquia, em Formosa, na Indonésia e na Índia (PAMUKCU, 1955; 1957; 1974; AYDIN; ÖZKUL, 1995; ÖZKUL; AYDIN, 1996; SOMVANSI et al., 2012; MAIOLINO et al., 2013; YÜCEL TENKECI et al., 2017).

A Hematúria Enzoótica Bovina (HEB) é causa de sérios prejuízos socioeconômicos em áreas severamente invadidas por *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum* no Sudeste do Brasil (GALVÃO et al., 2012).

Segundo Döbereiner et al. (1967), em um estudo a respeito da ocorrência de Hematúria Enzoótica (HE) e Carcinomas das Vias Digestivas Superiores (CVDS) em bovinos no Brasil, observou-se a invasão dos pastos por samambaia e três doenças distintas e próprias delas. Uma delas é caracterizada por hematúria intermitente crônica e todas com emagrecimento progressivo e que culmina sempre com a morte do animal. Intervalos sem sinais clínicos podem ocorrer e perdurar por semanas ou meses. A HE seria a primeira a aparecer, em animais a partir da idade de dois anos (HEESCHEN, 1959; DÖBEREINER et al., 1967).

A intermitência da hematúria não pode ser atribuída simplesmente à maior ou menor ingestão da planta ou a períodos de remissão da ingestão, uma vez que o fenômeno ocorre também em animais que não mais estão ingerindo a planta em áreas indenes (GALVÃO et al., 2012).

Os sinais clínicos da HE consistem em emagrecimento progressivo, palidez acentuada das mucosas e hematúria intermitente durante meses (SOUTO et al., 2006b). Os animais afetados apresentam a urina de coloração avermelhada e, se esta coloração não é evidenciada, microscopicamente observa-se a presença de hemácias na urina (FENWICK, 1988).

Avaliações bioquímicas e hematológicas revelam linfocitose, neutropenia, anemia progressiva, aumento da fragilidade de eritrócitos, redução do hematócrito e do conteúdo de hemoglobina, decréscimo de albumina, aumento da fração globulina, diminuição dos níveis séricos de cálcio e fósforo e aumento da creatinina e da fosfatase ácida (SINGH et al., 1973 *apud* FRANÇA et al., 2002).

Em um estudo que avaliou as alterações hematológicas, bioquímicas e urinárias de bovinos com HEB, foi possível verificar baixo nível plasmático de cálcio, níveis plasmáticos normais para fósforo e magnésio, aumento da excreção urinária fracionada de cálcio e fósforo e aumento plasmático de creatinina nos animais com macrohematúria. Não houve alteração significativa no eritrograma e leucograma dos animais até que os mesmos desenvolvessem hematúria clínica (FALBO et al., 2005).

O diagnóstico de HE deve basear-se no conjunto dos dados, principalmente no histórico, nas observações clínicas e nos achados de necropsia. Exames de laboratório são importantes para complementar o diagnóstico (TOKARNIA et al., 1967).

À necropsia, os bovinos apresentam mucosas pálidas e o sangue tem aspecto aquoso (anemia). As alterações mais significativas são observadas na bexiga onde é possível encontrar urina vermelho-escura (hematúria) e coágulos. A bexiga pode estar aumentada de volume na região do colo, e podem ser observadas múltiplas formações polipoides, avermelhadas, por vezes ulceradas e coberta por coágulos que protuem na mucosa (SOUTO et al., 2006b). Ainda, pode haver formações tipo cacho de uva, com nódulos de base larga, consistência firme e coloração acinzentada. A mucosa da bexiga pode estar coberta por elevações planas rugosas de coloração que variam de vermelho a alaranjado, que por vezes formam aglomerados (TOKARNIA et al., 1969).

Em estudo, no qual foram avaliadas, histologicamente, lesões da bexiga de 59 bovinos com HE, oriundos dos Estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná e Amazonas, verificou-se, em termos qualitativos, quase uma perfeita identidade com as lesões de bexiga observadas em seres humanos. Foi observada a ocorrência de duas ou mais neoplasias em um mesmo animal e coexistência entre neoplasias diversas, epiteliais e/ou mesenquimais. Neoplasias ou diferenciações raras, como carcinoma trabecular com diferenciação em células de Paneth, adenoma e adenocarcinoma mesonefróides, carcinoma “signet ring” (anel de sinete), carcinoma plasmocitóide, carcinoma de células cromóforas e carcinoma transicional tipo ninhado foram observadas na bexiga de alguns animais com HEB. Foram verificados hemangiossarcomas proliferando a partir de hemangiomas. O estudo revelou, ainda, a ocorrência de diversos tumores com anaplasia e carácter infiltrativo, incapazes, porém, de metastizarem (PEIXOTO et al., 2003). Segundo Oliveira (2014), as técnicas de imuno e lectino-histoquímicas podem contribuir para a caracterização das lesões e estabelecimento do diagnóstico diferencial de neoplasias associadas à HE.

2.3.3 Neoplasias do Trato Alimentar Superior (TAS)

Nas regiões do Brasil onde os pastos são muito invadidos por *Pteridium* spp., existe uma alta incidência de carcinomas de células escamosas na base da língua, da faringe, do esôfago e do rúmen de bovinos, processos neoplásicos esses que, fora das regiões de ocorrência da planta e com esta localização anatômica, são raros. Em função desses dados e sabendo da ação radiomimética desta planta, surgiu a hipótese de que a samambaia seria a responsável ou teria ligação com a etiologia desses carcinomas (DÖBEREINER et al., 1967; TOKARNIA et al., 1969).

A ocorrência dos Carcinomas das Vias Digestivas Superiores (CVDS) (DÖBEREINER et al., 1967; TOKARNIA et al., 1969) ou neoplasias do Trato Alimentar Superior - TAS (GAVA et al., 2002; GABRIEL et al., 2009; MASUDA et al., 2011; SOUTO et al., 2006a; FACCIN et al., 2017; 2018) associadas à ingestão crônica de samambaia já foi descrita em bovinos no Brasil, na Escócia (JARRETT et al., 1978; CAMPO et al., 1985) e na Itália (BORZACCHIELLO et al., 2003).

No Brasil, as lesões de TAS foram observadas só em animais mais velhos, acima de 4-5 anos de idade (DÖBEREINER et al., 1967; GAVA et al., 2002). No sul da Itália, onde *P. aquilinum* é comum, o exame de 1133 bovinos de matadouros com idades entre 4 e 12 anos revelou lesões esofágicas (BORZACCHIELLO et al., 2003).

Os sinais clínicos observados incluem emagrecimento progressivo, atonia ruminal, tosse, disfagia, regurgitação, halitose, diarreia e timpanismo. As principais neoplasias encontradas no TAS são papilomas, papilomas em transformação para carcinomas de células escamosas (CCEs) e CCEs. Metástases de CCEs para linfonodos regionais e outros órgãos (como fígado e pulmões) também podem ser notados (SOUTO et al., 2006a).

2.4 Vírus da Papilomatose e Neoplasias em Bovídeos

A papilomatose bovina é uma enfermidade tumoral benigna, causada por um vírus da família *Papillomaviridae*, gênero *Xipapillomavirus*, espécie *Xipapillomavirus 1* (INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES, 2017; LOVATO, 2007), caracterizada por alterações na pele e nas mucosas.

Nas regiões do Brasil em que os pastos são muito invadidos por samambaia, existe uma alta incidência de neoplasias do Trato Alimentar Superior (TAS) em bovinos. A primeira correlação entre a ingestão de plantas do gênero *Pteridium* e a ocorrência de neoplasias do TAS

de bovinos foi feita no Brasil (DÖBEREINER et al., 1967; TOKARNIA et al., 1969). Porém, apesar de ser conhecido o efeito carcinogênico da samambaia, devido a presença do ptaquilosídeo (PTQ), princípio tóxico de ação radiomimética (HIRONO et al., 1984; HIRONO, 1990), alguns autores ainda sugerem uma coparticipação do papilomavírus bovino (BPV) na patogênese das neoplasias do TAS de bovinos (JARRETT et al., 1978; BORZACCHIELLO et al., 2003), e ainda, da Hematúria Enzoótica (HE) em bovinos (OLSON et al., 1959; JARRETT et al., 1978; CAMPO et al., 1992; WOSIACKI et al., 2002; BORZACCHIELLO et al., 2003; ROPERTO et al., 2005; WOSIACKI et al., 2005; WOSIACKI et al., 2006; BORZACCHIELLO et al., 2007; ROPERTO et al., 2007; BALCOS et al., 2008; ROPERTO et al., 2008a; ROPERTO et al., 2008b; PATHANIA et al., 2011; RESENDES et al., 2011; DIAS et al., 2012) e bubalinos (SOMVANSI, 2011; SOMVANSI et al., 2012; MAIOLINO et al., 2013; ROPERTO et al., 2013).

Campo et al. (1980; 1994) acreditam que os papilomas do TAS de bovinos induzidos por vírus sejam ponto de partida para o desenvolvimento de carcinomas epidermóides, isto seria um foco para transformação em carcinomas de células escamosas (CCEs) em animais que se alimentam de samambaia. Porém, em 1985, os mesmos autores demonstraram que, embora necessária para a indução de papilomas, a presença do DNA do BPV não é essencial para a progressão ou manutenção do estado de transformação de papiloma a carcinoma (CAMPO et al., 1985) e a imunossupressão, induzida pelo consumo da planta, seria necessária para a persistência e disseminação de papilomas virais, enquanto os fatores mutagênicos da planta seriam responsáveis pela conversão de células neoplásicas de papiloma em carcinoma. A infecção viral, contudo, não seria necessária para a manutenção do estado maligno (CAMPO et al., 1994). Faccin et al. (2018), mais recente, não detectaram DNA de BPV nos papilomas do TAS de bovinos por reação em cadeia da polimerase (PCR) e por isso descartaram a infecção por BPV como co-fator no desenvolvimento dos CCEs em bovinos.

Em relação a HE, Rosenberger (1965) reproduziu clinicamente a doença pela administração diária de aproximadamente 2kg de feno de *P. aquilinum*, por dia, para uma vaca, no prazo de aproximadamente 8-9 meses. À mesma época, Stamatovic et al. (1965) também induziram a formação de neoplasias em bovinos, pela administração oral de *P. aquilinum*. Esse tempo de ingestão prolongado coincide com o tempo necessário para que bovinos introduzidos em pastagens invadidas por samambaia comecem a “urinar sangue”.

Epidemiologicamente, há outras evidências robustas da estreita associação entre a ingestão de *Pteridium* spp. e HE. Por exemplo, a hematúria causada por lesões neoplásicas ou

hiperplásicas na bexiga, só ocorre quando os animais pastejam em áreas em que há samambaia nos campos. Por outro lado, a pretensa necessidade de haver ou de ter ocorrido infecção prévia pelo BPV para que os bovinos venham a desenvolver as lesões de bexiga características tropeçam no fato de que há grande número de bovinos afetados pela HE que, porém são negativos para BPV, bem como na persistente falha em induzir neoplasias/processos hiperplásicos na bexiga de bovinos, desde que Olson et al. (1959) e mais tarde Döbereiner et al. (1966) tentaram, sem sucesso, induzir essas lesões por meio de inoculações com esse vírus. É também extremamente sólido o argumento de que algumas plantas do gênero *Pteridium* podem induzir, por si só, a formação de neoplasias, quando se tomam por base os numerosos experimentos realizados com a administração/ingestão de plantas desse gênero às mais diversas espécies animais, como porquinhos da índia (EVANS, 1968), codornas (MAEDA, 1975), ratos (PRICE; PAMUKCU, 1968) e camundongos (HIRONO et al., 1970). Todos esses estudos experimentais indicam que não há necessidade de haver infecção por BPV para que ocorra HE em búfalos ou bovinos.

2.5 Controle e Profilaxia da Intoxicação por *Pteridium* spp

A profilaxia dos diversos quadros de intoxicação por *Pteridium* spp. consiste em evitar a ingestão da planta, pois a prevenção é a melhor opção, já que não existe um tratamento totalmente eficaz e curativo para as enfermidades causadas por samambaia. Um planejamento estratégico de fornecimento de alimentos alternativos para que os animais não sofram carência nutricional e acabem consumindo *Pteridium* é fundamental, bem como realizar o controle do crescimento e desenvolvimento da planta.

Em terras planas poderia ser realizada a calagem, aração profunda e gradagem do solo, como tentativa de combate ou controle da planta. Porém, em regiões montanhosas, esse procedimento se torna mais difícil. E em relação à calagem, alguns experimentos foram realizados e notaram que não surte um bom controle sobre a planta (PEIXOTO, dados não publicados).

Outras alternativas de controle da planta podem ser empregadas, tais como o corte da samambaia (duas a três vezes ao ano); uso de herbicidas associados ao corte; adubações corretas do solo; implementação de cultivos anuais e árvores integrados com pasto (ex. sistema de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta); proteger contra o fogo as áreas de pastagens invadidas por samambaias. A ocorrência de incêndios favorece o estabelecimento das plantas e a brotação,

que, após as queimadas, concentram grandes quantidades de princípios tóxicos. Outra medida é a reforma das pastagens, utilizando espécies forrageiras que cobrem rapidamente o solo e são competitivas, como *Brachiaria decumbens* e *Setaria* sp. (TOKARNIA et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2018). Porém, segundo Galvão et al. (2012), métodos de controle da planta, em geral, são pouco eficientes.

Uma vez desenvolvidas as formas crônicas da doença pelo consumo da planta, não existem nem mesmo alternativas efetivas, como transferir os animais para uma área sem a presença de samambaia. Com o objetivo de esclarecer a questão da possível sobrevivência de bovinos afetados por Hematúria Enzoótica (HE), quando transferidos para áreas livres de *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum*, Galvão et al. (2012) demonstraram que a grande maioria (mais de 90%) dos animais afetados morre em menos de dois anos, mesmo após serem transferidos para áreas índenes. Esse estudo demonstra que a transferência de animais não é uma alternativa de controle e profilaxia da HE.

2.6 Referências Bibliográficas

ANJOS, B.L.; IRIGOYEN, L.F.; FIGHERA, R.A.; GOMES, A.D.; KOMMERS, G.D.; BARROS, C.S.L. Intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos na Região Central do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.28, n.10, p.501-507, 2008.

ANJOS, B.L.; IRIGOYEN, L.F.; PIAZER, J.V.M; BRUM, J.S.; FIGHERA, R.A.; BARROS, C.S.L. Intoxicação experimental aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, n.9, p.753-766, 2009.

AYDIN, Y.; ÖZKUL, I.A. Nonneoplastic findings of the urinary bladder in cattle and water buffalo in the black sea region of turkey. **Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v.42, p.189-192, 1995.

BALCOS, L.G.F.; BORZACCHIELLO, G.; RUSSO, V.; POPESCU, O.; ROPERTO, S.; ROPERTO, F. Association of bovine papillomavirus type-2 and urinary bladder tumours in cattle from Romania. **Research in Veterinary Science**, v.85, n.1, p.145-148, 2008.

BARBOSA, J.D.; OLIVEIRA, C.M.C.; DUARTE, M.D.; PEIXOTO, P.V.; TOKARNIA, C.H. Intoxicações experimental e natural por *Ipomoea asarifolia* (Convolvulaceae) em búfalos e outros ruminantes. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.25, n.4, p.231-234, 2005.

BASTIANETTO, E.; BARBOSA, J.D. Diferenças Fisiológicas entre Bubalinos e Bovinos: Interferência na Produção. In: VIII Congresso Brasileiro de Buiatria, 2009, Belo Horizonte, Minas Gerais. **Ciência Animal Brasileira** 1(Supl.), Belo Horizonte, Minas Gerais, p.1-13, 2009.

BORZACCHIELLO, G.; AMBROSIO, V.; ROPERTO, S.; POGGIALI, F.; TSIRIMONAKIS, E.; VENUTI, A.; CAMPO, M.S.; ROPERTO, F. Bovine papillomavirus type 4 in oesophageal papillomas of cattle from the south of Italy. **Journal of Comparative Pathology**, v.128, n.2-3, p.203-206, 2003.

BORZACCHIELLO, G.; RUSSO, V.; SPOLETO, C.; ROPERTO, S.; BALCOS, L.; RIZZO, C.; VENUTI, A.; ROPERTO, F. Bovine papillomavirus type-2 DNA and expression of E5 and E7 oncoproteins in vascular tumours of the urinary bladder in cattle. **Cancer Letters**, v.250, n.1, p.82-91, 2007.

CAMPO, M.S.; JARRETT, W.F.H.; BARRON, R.; NEIL, B.W.O.; SMITH, K.T. Association of bovine papillomavirus type 2 and bracken fern with bladder cancer in cattle. **Cancer Research**, v.52, p.6898-6904, 1992.

CAMPO, M.S.; MOAR, M.H.; JARRETT, W.F.; LAIRD H.M. A new papillomavirus associated with alimentary cancer in cattle. **Nature**, v.286, n.5769, p.180-182, 1980.

CAMPO, M.S.; MOAR, M.H.; SARTIRANA, M.L.; KENNEDY, I.M.; JARRETT, W.F.H. The presence of bovine papillomavirus type 4 DNA is not required for the progression to, or the maintenance of, the malignant state in cancers of the alimentary canal in cattle. **The EMBO Journal**, v.4, n.7, p.1819-1825, 1985.

CAMPO, M.S.; O'NEIL, B.W.; BARRON, R.J.; JARRETT W.F. Experimental reproduction of the papilloma-carcinoma complex of the alimentary canal in cattle. **Carcinogenesis**, v.15, n.8, p.1597-1601, 1994.

DIAS, J.D.C.; IGNACCHITI, M.D.C.; GIURIATO, P.G.G.; NUNES, L.C.; PEREIRA JR, O.S. Detecção do papilomavírus bovino tipo 2 em bexigas de bovinos com hematúria enzoótica pela técnica de reação em cadeia de polimerase no sul do Espírito Santo, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.34, n.2, p.146-151, 2012.

DÖBEREINER, J.; OLSON, C.; BROWN, R.R.; PRICE, J.M.; YESS, N. Metabolites in urine of cattle with experimental bladder lesions and fed bracken fern. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.1, p.189-199, 1966.

DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C.H.; CANELLA, C.F.C. Ocorrência da hematúria enzoótica e de carcinomas epidermóides no trato digestivo superior em bovinos no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.2, n.1, p.489-504, 1967.

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

EVANS, I.A.; MASON, J. Carcinogenic activity of bracken. **Nature**, v.208, n.5013, p.913, 1965.

EVANS, W.C.; EVANS, E.T.R.; HUGHES, L.E. Studies on bracken poisoning in cattle – Part I. **British Veterinary Journal**, v.110, n.8, p.295-306, 1954.

FACCIN, T.C.; CARGNELUTTI, J.F.; RODRIGUES, F.S.; MENEZES, F.R.; PIAZER, J.V.M.; MELO, S.M.P.; LAUTERT, B.F.; FLORES, E.F.; KOMMERS, G.D. Bovine upper alimentary squamous cell carcinoma associated with bracken fern poisoning: Clinical-pathological aspects and etiopathogenesis of 100 cases. **PLoS ONE**, v.13, n.9, p.e0204656, 2018.

FACCIN, T.C.; MASUDA, E.K.; PIAZER, J.V.M.; MELO, S.M.P.; KOMMERS, G.D. Annular stenotic oesophageal squamous cell carcinoma in cattle exposed naturally to bracken fern (*Pteridium arachnoideum*). **Journal of Comparative Pathology**, v.157, n.2-3, p.174-180, 2017.

FALBO, M.K.; REIS, A.C.F.; BALARIN, M.R.S.; BRACARENSE, A.P.F.R.L.; ARAÚJO JR., J.P.; OKANO, W.; SANDINI, I.E. Alterações hematológicas, bioquímicas, urinárias e histopatológicas na intoxicação natural em bovinos pela samambaia *Pteridium aquilinum* (L.) Kühn. **Semina: Ciências Agrárias**, v.26, n.4, p.547-558, 2005.

FENWICK, G.R. Bracken (*Pteridium aquilinum*) – Toxic effects and to constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.46, n.2, p.147-173, 1988.

FRANÇA, T.N.; TOKARNIA, C.H.; PEIXOTO, P.V. Enfermidades determinadas pelo princípio radiomimético de *Pteridium aquilinum* (Polypodiaceae). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.22, n.3, p.85-96, 2002.

GABRIEL, A.L.; KOMMERS, G.D.; MASUDA, E.K; FIGHERA, R.A.; PIAZER, J.V.M.; BARROS, C.S.L.; MARTINS, T.B.; ROSA F.B. Aspectos clínicos-hematológicos e lesões vesicais nas formas crônicas de intoxicação espontânea por *Pteridium aquilinum* em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, n.7, p.515-525, 2009.

GALVÃO, A.; BRITO, M.F.; ARAGÃO, A.P.; YAMASAKI, E.M.; PEIXOTO, P.V.; TOKARNIA, C.H. Sobrevivência/viabilidade de bovinos com Hematúria Enzoótica após transferência para região livre de *Pteridium arachnoideum*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.9, p.887-902, 2012.

GAVA, A.; NEVES, D.S.; GAVA, D.; SALIBA, T.M.; SCHILD, A.L.; RIET-CORREA, F. Bracken fern (*Pteridium aquilinum*) poisoning in cattle in southern Brazil. **Veterinary and Human Toxicology**, v.44, n.6, p.362-365, 2002.

HEESCHEN, W. Die Haematuria vesicalis bovis chronica. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, v.66, n.22, p.622-626, 1959.

HIRONO, I. Carcinogenicity of bracken fern and its causal principle. In: BRACKEN BIOLOGY AND MANAGEMENT, 40, 1990, Sidney, Australia. **Anais: AIAS (NSW)**, Sidney, Australia: University of Sydney, p.233-240, 1990.

HIRONO, I.; AISO, S.; YAMAJI, T.; MORI, H.; YAMADA, K.; NIWA, H.; OJIKI, M.; WAKAMATSU, K.; KIGOSHI, H.; NIYAMA, K.; UOSAKI, Y. Carcinogenicity in rats of ptaquiloside isolated from bracken. **Gann**, v.75, n.10, p.833-836, 1984.

HIRONO, I.; SHIBUYA, C.; FUSHIMI, K.; HAGA, M. Studies on carcinogenic properties of bracken, *Pteridium aquilinum*. **Journal of the National Cancer Institute**, v.45, p.179-188, 1970.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. **Virus taxonomy**. Budapest, 2017. Disponível em: <<https://talk.ictvonline.org/>>. Acesso em: 15 out. 2020.

JARRETT, W.F.H.; MCNEIL, P.E.; GRIMSHAW, W.T.R.; SELMAN, I. E.; MCINTYRE, W.I.M. High incidence area of cattle cancer with a possible interaction between an environmental carcinogen and a papilloma virus. **Nature**, v.274, n.20, p.215-217, 1978.

LOVATO, L.T. Classificação e nomenclatura dos vírus. In: FLORES, E. F. (Org.). **Virologia veterinária**. 1. ed. Santa Maria: Ed. da UFSM, cap.2, p.37-58, 2007.

MAEDA, T. Fundamental studies on the etiology of Haematuria vesicalis bovis. I. The induction of carcinomas and haemorrhages of the urinary bladder in Guinea pigs by feeding bracken fern (*Pteridium aquilinum*), Bull. **Faculty of Agriculture, Tottori University**, v.27, p.79-80, 1975.

MAIOLINO, P.; ÖZKUL, A.; SEPICI-DINCEL, A.; ROPERTO, F.; YÜCEL, G.; RUSSO, V.; URRARO, C.; LUCÀ, R.; RICCARDI, M.G.; MARTANO, M.; BORZACCHIELLO, G.; ESPOSITO, I.; ROPERTO, S. Bovine papillomavirus type 2 infection and microscopic patterns of urothelial tumors of the urinary bladder in water buffaloes. **BioMed Research International**, v.13, p.1-6, 2013.

MASUDA, E.K.; KOMMERS, G.D.; MARTINS, T.B.; BARROS, C.S.L.; PIAZER, J.V.M. Morphological Factors as Indicators of Malignancy of Squamous Cell Carcinomas in Cattle Exposed Naturally to Bracken Fern (*Pteridium aquilinum*). **Journal of Comparative Pathology**, v.144, n.1, p.48-54, 2011.

OLIVEIRA, C.M.C.; BARBOSA, J.D.; MACEDO, R.S.; BRITO, M.F.; PEIXOTO, P.V.; TOKARNIA, C.H. Estudo comparativo da toxidez de *Palicourea juruana* (Rubiaceae) para búfalos e bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n.1, p.27-30, 2004.

OLIVEIRA, L.G.P. **Estudos imuno-histoquímico e lectino-histoquímico de lesões na hematúria enzoótica bovina no Brasil**. 2014, 75f. Tese (doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ, 2014.

OLIVEIRA, V.M.; SCHWARTSBURD, P.B.; BRIGHENTI, A.M.; D'OLIVEIRA, P.S.; MIRANDA, J.E.C. Plantas Tóxicas em Pastagens: Samambaia-do-campo (*Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum* (Kaulf.) Thomson, Família Dennstaedtiaceae). **Embrapa Gado de Leite-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**. 2018.

OLSON, C.; PAMUKCU, A.M.; BROBST, D.F.; SATTER, E.J.; PRICE, J.M. A urinary bladder tumor unduced by a bovine cutaneous papillomatosis. **The American Journal of Pathology**, v.35, p.672, 1959.

ÖZKUL, I.A.; AYDIN, Y. Tumours of the urinary bladder in cattle and water buffalo in the Black Sea region of Turkey. **British Veterinary Journal**, v.152, n.4, p.473-475, 1996.

PAMUKCU, A.M. Investigations on the pathology of enzootic bovine haematuria in Turkey. **Transboundary and Emerging Diseases**, v.2, n.5, p.409-429, 1955.

PAMUKCU, A.M. Tumors of the urinary bladder in cattle and water buffalo affected with enzootic bovine hematuria. **Zentralblatt für Veterinärmedizin**, v.4, n.2, p.185-197, 1957.

PAMUKCU, A.M. Tumours of the urinary bladder. **Bulletin of the World Health Organization**, v.50, n.1-2, p.43-52, 1974.

PAMUKCU, A.M.; PRICE, J.M. Induction of intestinal and urinary bladder cancer in rats by feeding bracken fern (*Pteris aquilina*). **Journal of the National Cancer Institute**, v.43, n.1, p.275-281, 1969.

PATHANIA, S.; KUMAR, P.; DEVI, L.G.; KUMAR, D.; DHAMA, K.; SOMVANSI, R. Preliminary assessment of binary ethylenimine inactivated and saponized cutaneous warts (BPV-2) therapeutic vaccine for enzootic bovine haematuria in hill cows. **Vaccine**, v.29, n.43, p.7296-7302, 2011.

PEIXOTO, P.V.; FRANÇA, T.N.; BARROS, C.S.L.; TOKARNIA, C.H. Histopathological aspects of Bovine Enzootic Hematuria in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.23, n.2, p.65-81, 2003.

PRICE, J.M.; PAMUKCU, A.M. The induction of neoplasms of the urinary bladder of the cow and the small intestine of the rat by feeding bracken fern (*Pteris aquilina*). **Cancer Research**, v.28, n.11, p.2247-2251, 1968.

RESENDES, A.R.; ROPERTO, S.; TRAPANI, F.; URRARO, C.; RODRIGUES, A.; ROPERTO, F.; BORZACCHIELLO, G. Association of bovine papillomavirus type 2 (BPV-2) and urinary bladder tumours in cattle from the Azores archipelago. **Research in Veterinary Science**, v.90, n.3, p.526-529, 2011.

ROPERTO, S.; AMBROSIO, V.; BORZACCHIELLO, G.; GALATI, P.; PACIELLO, O.; RUSSO, V.; ROPERTO, F. Bovine papillomavirus type-2 (BPV-2) infection and expression of uroplakin IIIb, a novel urothelial cell marker, in urinary bladder tumors of cows. **Veterinary Pathology**, v.42, n.6, p.812-818, 2005.

ROPERTO, S.; BORZACCHIELLO, G.; BRUN, R.; PERILLO, A.; RUSSO, V.; URRARO, C.; ROPERTO, F. Multiple glomus tumors of the urinary bladder in a cow associated with bovine papillomavirus type 2 (BPV-2) infection. **Veterinary Pathology**, v.45, n.1, p.39-42, 2008b.

ROPERTO, S.; BORZACCHIELLO, G.; CASELLATO, R.; GALATI, P.; RUSSO, V.; SONNINO, S.; ROPERTO, F. Sialic acid and GM3 ganglioside expression in papillomavirus-associated urinary bladder tumours of cattle with chronic enzootic haematuria. **Journal of Comparative Pathology**, v.137, n.2-3, p.87-93, 2007.

ROPERTO, S.; BRUN, R.; PAOLINI, F.; URRARO, C.; RUSSO, V.; BORZACCHIELLO, G.; PAGNINI, U.; RASO, C.; RIZZO, C.; ROPERTO, F.; VENUTI, A. Detection of bovine papillomavirus type 2 in the peripheral blood of cattle with urinary bladder tumours: possible biological role. **Journal of General Virology**, v.89, n.12, p.3027-3033, 2008a.

ROPERTO, S.; RUSSO, V.; OZKUL, A.; SEPICI-DINCEL, A.; MAIOLINO, P.; BORZACCHIELLO, G.; MARCUS, I.; ESPOSITO, I.; RICCARDI, M.G.; ROPERTO, F. Bovine papillomavirus type 2 infects the urinary bladder of water buffalo (*Bubalus bubalis*) and plays a crucial role in bubaline urothelial carcinogenesis. **Journal of General Virology**, v.94, n.2, p.403-408, 2013.

ROSENBERGER, G. Längere Aufnahme von Adlerfarn (*Pteris aquiline*) – die Ursache der chronischen vesikalen haematuria des Rindes. **Wiener Tierärztliche Monatsschrift**, v.52, n.5, p.415-421, 1965

ROSENBERGER, G.; HEESCHEN, W. Adlerfarn (*Pteris aquiline*) – die Ursache des sog. Stallrotes der Rinder (Haematuria vesicalis bovis chronica). **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, v.67, n.8, p.201-208, 1960.

SOMVANSI, R.; PATHANIA, S.; NAGARAJAN, N.; PANGTY, K.; KUMAR, P. Pathological study of non-neoplastic urinary bladder lesions in cattle and buffaloes: a preliminary report. **Tropical Animal Health and Production**, v.44, n.4, p.855-861, 2012.

SOUTO, M.A.M.; KOMMERS, G.D.; BARROS, C.S.L.; PIAZER, J.V.M.; RECH, R.R.; CORREA, F.R.; SCHILD, A.L. Neoplasias do trato alimentar superior de bovinos associadas ao consumo espontâneo de samambaia (*Pteridium aquilinum*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.26, n.2, p.112-122, 2006a.

SOUTO, M.A.M.; KOMMERS, G.D.; BARROS, C.S.L.; RECH, R.R.; PIAZER, J.V.M. Neoplasmas da bexiga associados à hematuria enzoótica bovina. **Ciência Rural**, v.36, n.5, p.1647-1650, 2006b.

STAMATOVIĆ, S.; BRATANOVIC, U.; SOFRENOVIC, D. Das klinische Bild der durch Verfütterung von Adlerfarn (*Pteris aquilina*) experimentell hervorgerufenen Haematuria vesicalis der Rinder. **Wiener Tierärztliche Monatsschrift**, v.52, n.6, p.589-596, 1965.

THOMSON, J.A. Morphological and genomic diversity in the genus *Pteridium* (Dennstaedtiaceae). **Annals of Botany**, v.85, (Supplement B), p.77-99, 2000.

THOMSON, J.A. Taxonomic status of diploid southern hemisphere bracken (*Pteridium*: Dennstaedtiaceae). **Telopea**, v.14, p.43-48, 2012.

TOKARNIA, C.H.; BRITO, M.F.; BARBOSA, J.D.; PEIXOTO, P.V.; DÖBEREINEIR, J.; **Plantas Tóxicas do Brasil**. 2. ed. Rio de Janeiro: Helianthus, 566p., 2012.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; CANELLA, C.F.C. Ocorrência da intoxicação aguda pela “samambaia” (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) em bovinos no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.2, n.1, p.329-336, 1967.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; CANELLA, C.F.C. Ocorrência de hematuria enzoótica e de carcinomas epidermóides no trato digestivo superior em bovinos no Brasil II. Estudos complementares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.4, n.1, p.209-224, 1969.

WOSIACKI, S.R.; BARREIRO, M.A.B.; ALFIERI, A.F.; ALFIERI, A.A. Semi-nested PCR for detection and typing of bovine Papillomavirus type 2 in urinary bladder and whole blood from cattle with enzootic haematuria. **Journal of Virological Methods**, v.126, n.1-2, p.215-219, 2005.

WOSIACKI, S.R.; CLAUS, M.P.; ALFIERI, A.F.; ALFIERI, A.A. Bovine papillomavirus type 2 detection in the urinary bladder of cattle with chronic enzootic haematuria. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.101, n.6, p.635-638, 2006.

WOSIACKI, S.R.; REIS, A.C.F.; ALFIERI, A.F.; ALFIERI, A.A. Papilomavírus bovino tipo 2 na etiologia da hematuria enzoótica bovina. **Semina: Ciências Agrárias**, v.23, n.1, p.121-130, 2002.

YÜCEL TENKECİ, G.; ÖZTEKİN, M.; BOZKURT, M.F.; SEPİCİ DİNÇEL, A.; ÖZKUL, İ.A. Pathomorphological and Immunohistochemical Studies of Tumours in the Urinary Bladders of Water Buffalo in Marmara, the Central and Western Black Sea Region of Turkey. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v.23, n.2, 2017.

3 CAPÍTULO I

Ocorrência de hematúria enzoótica em búfalos no Brasil
(Occurrence of enzootic hematuria in buffaloes in Brazil)

Artigo submetido ao periódico: Pesquisa Veterinária Brasileira

Qualis 2013-2016: Estrato A2 – Medicina Veterinária

Qualis 2019: Estrato A4 – Área Única

Ocorrência de Hematúria Enzoótica em Búfalos no Brasil¹

Juliana F. Rocha^{2*}, Bartolomeu B. N. Santos³, Alexandre Galvão⁴, Tayson O. Marques⁵,
Leonardo R. L. Silva⁶, Ticiana N. França³, Paulo V. Peixoto³

ABSTRACT. - Rocha J.F., Santos B.B.N., Galvão A., Marques T.O., Silva L.R.L., França T.N. & Peixoto P.V. 2020. **Occurrence of Enzootic Hematuria in Buffaloes in Brazil.** *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Projeto Sanidade Animal Embrapa/UFRRJ, Seropédica, RJ 23890-000, Brazil. E-mail: jurocha.me@gmail.com

Through an epidemiological survey and clinical-pathological evaluation, the occurrence of Enzootic Hematuria (EH) in buffaloes in Brazil is described. This condition determined by the ingestion of *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum*, a plant popularly known as "bracken fern", has not yet been described in Brazil in this species. The development of hyperplastic and neoplastic processes in the bladder, responsible for hematuria, is due to the presence of ptakiloside, known for its radiomimetic effect, whose action may vary depending on the animal species, the time of ingestion and the daily amount ingested. In the Southeast Region, bovine EH is responsible for high economic losses, due not only to deaths, but also due to the decline in productivity. In São José do Barreiro, SP, some producers in areas with a high incidence of bovine EH have been replacing cattle with buffaloes, based on the premise that they would be more resistant to poisoning. Although, according to initial observations, buffaloes are actually less sensitive than cattle to the toxic principle of *Pteridium spp.*, nevertheless, there have been cases of hematuria in this species. According to the initial survey, EH only occurs in buffalo over six years old. On macroscopic examination, the thickened urinary vesicle mucosa was found, with multiple foci of ulcerated, exophytic, verrucous and pedunculated lesions. In one of the animals, there was a rupture of the bladder wall with marked secondary inflammation. Histologically, neoplastic and non-neoplastic changes similar to those described in cattle were observed. Among the neoplasms was found papilloma, carcinoma *in situ*, urothelial carcinoma (low and high grade), inverted, microcystic and trabecular variants, urothelial carcinoma with divergent differentiation (squamous and glandular), squamous cell carcinoma, lymphangioma, hemangioma and hemangiosarcoma. There was also a coexistence between epithelial and mesenchymal neoplasms. So far, there was only a description of this disease in the buffalo species in Turkey, Taiwan, Indonesia and India.

INDEX TERMS: *Pteridium*, bracken fern, buffalo, hematuria, bladder neoplasm.

RESUMO. - [Ocorrência de Hematúria Enzoótica em Búfalos no Brasil] Descreve-se, através de levantamento epidemiológico e avaliação clínico-patológica, a ocorrência de Hematúria Enzoótica (HE) em búfalos no Brasil. Essa condição, determinada pela ingestão de *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum*, planta conhecida popularmente como "samambaia" ou "samambaia do campo", até então não havia sido descrita no Brasil nessa espécie. O desenvolvimento de processos hiperplásicos e neoplásicos da bexiga, responsáveis pela hematúria, deve-se à presença de ptaquilosídeo, substância radiomimética, cuja ação pode variar em função da espécie animal, do tempo de ingestão e da quantidade diária ingerida. Na Região Sudeste, a HE bovina é responsável por elevadas perdas econômicas, devidas não apenas aos óbitos, mas também em função da queda de produtividade. No Município de São José do Barreiro, SP, alguns produtores de áreas com alta incidência de HE bovina, vêm substituindo os bovinos por búfalos, com base na premissa de que estes seriam mais resistentes à intoxicação. Embora, de acordo com observações iniciais, os búfalos realmente sejam menos sensíveis que os bovinos ao princípio tóxico de *Pteridium spp.*, ainda assim, tem-se

¹ Recebido em

Aceito para publicação em

² Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR-465, Km 7, Seropédica, RJ 23897000, Brasil. *Autor para correspondência: jurocha.me@gmail.com

³ Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR-465, Km 7, Seropédica, RJ 23897000, Brasil. E-mail: bartolomeu.neves@gmail.com, ticianaf Franca19@gmail.com, pfpeixoto19@gmail.com

⁴Centro Universitário Barra Mansa (UBM), Rua Ver. Pinho de Carvalho, Centro, Barra Mansa, RJ, 27330-550. E-mail: tandyvet@gmail.com

⁵Médico Veterinário Autônomo, Volta Redonda, RJ, Brasil. E-mail: taysonmarques.vet@gmail.com

⁶Laboratório de Virologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, Porto Alegre, RS, 91540-000. E-mail: leonardo.lobraico@hotmail.com

verificado a ocorrência de casos de hematúria nessa espécie. De acordo com o levantamento inicial, a HE só ocorre em búfalos com idade a partir de seis anos. Ao exame macroscópico, verificou-se a mucosa da bexiga espessada, com múltiplos focos de lesões ulceradas, exofíticas, papiliformes, verrucosas, pedunculadas. Histologicamente, foram observadas alterações neoplásicas e não neoplásicas semelhantes às descritas nos bovinos com HE. Entre as neoplasias foram encontrados papiloma, carcinoma *in situ*, carcinoma urotelial (baixo e alto grau), variantes invertido, microcístico e trabecular, carcinoma urotelial com diferenciação divergente (escamosa e glandular), carcinoma de células escamosas, linfangioma, hemangioma e hemangiossarcoma. Ocorreu também coexistência entre neoplasias epiteliais e mesenquimais. Até então só na Turquia, em Formosa, na Indonésia e na Índia havia descrição desta enfermidade na espécie bubalina.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Pteridium*, samambaia, bubalino, hematúria, neoplasia de bexiga.

INTRODUÇÃO

Plantas do gênero *Pteridium* spp. estão entre as plantas tóxicas mais importantes do mundo, dada sua distribuição cosmopolita e, principalmente, pelo seu alto potencial carcinogênico para animais e, ao que tudo indica, também para seres humanos. *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum*, uma das plantas que causam graves prejuízos econômicos na pecuária brasileira, nas áreas onde ocorrem, é conhecida popularmente como "samambaia" ou "samambaia do campo", na Região Sudeste, ou ainda como "feto", em outros países de língua portuguesa e na Região norte do Estado do RJ. É muito conhecida como invasora, porém, no Brasil, fora do meio acadêmico, poucos sabem ou acreditam que essa planta tóxica seja uma das mais importantes para bovinos (Tokarnia et al. 2012). O efeito carcinogênico se dá pela presença de um norsesquiterpeno denominado ptaquilosídeo (PTQ), princípio tóxico de ação radiomimética (Hirono et al. 1984, Hirono 1990), cuja ação pode variar em função da espécie animal, do tempo de ingestão e da quantidade diária ingerida (Tokarnia et al. 2012). Um estudo recente mostrou que a samambaia contém, adicionalmente, iludanos, substâncias que poderiam contribuir para sua toxicidade e carcinogenicidade, embora o PTQ seja considerado o principal agente cancerígeno da planta (O'Connor et al. 2019). Alguns autores ainda sugerem uma coparticipação do papilomavírus bovino tipo 2 na patogênese da Hematúria Enzoótica Bovina - HEB (Olson et al. 1959, Jarrett et al. 1978, Campo et al. 1992, Wosiacki et al. 2002, Borzacchiello et al. 2003, Roperto et al. 2005, Wosiacki et al. 2005, Wosiacki et al. 2006, Borzacchiello et al. 2007, Roperto et al. 2007, Balcos et al. 2008, Roperto et al. 2008a, Roperto et al. 2008b, Pathania et al. 2011, Resendes et al. 2011, Dias et al. 2012).

Em bovinos, a ingestão de *Pteridium* spp. provoca um dos três diferentes quadros clínico-patológicos determinados pela ação radiomimética da planta, isto é, Neoplasias do Trato Alimentar Superior - TAS, Hematúria Enzoótica - HE (Döbereiner et al. 1967, Tokarnia et al. 1969) e Diátese Hemorrágica - DH (Tokarnia et al. 1967), responsáveis por pesados prejuízos econômicos para pecuaristas no Brasil (Tokarnia et al. 2012). A HE tem sido descrita sobretudo em bovinos, enquanto que em búfalos há apenas escassas referências. Até o momento, esta condição (HE) só havia sido relatada na Turquia, em Formosa, na Indonésia e na Índia (Pamukcu 1955, 1957, 1974, Aydin & Özkul 1995, Özkul & Aydin 1996, Somvanshi et al. 2012, Maiolino et al. 2013, Yücel Tenekeci et al. 2017).

A HE em bovinos é caracterizada por quadro clínico de hematúria intermitente crônica, anemia, emagrecimento progressivo e morte do animal. Segundo Pamukcu (1957), os tumores de bexiga em bovinos e bubalinos afetados com HE ocorrem entre 2 e 14 anos de idade; já em um levantamento realizado apenas com búfalos, na Turquia, a faixa etária oscilou entre 3 e 8 anos (Yücel Tenekeci et al. 2017).

À necropsia, a bexiga de bovinos e bubalinos com HE pode apresentar espessamento da parede, massas tumorais firmes, de superfície amarelada e irregular, que protruem para o lúmen, múltiplas formações polipoides avermelhadas, por vezes ulceradas e cobertas por coágulos. Em alguns casos, a bexiga pode atingir um tamanho 6-7 vezes maior que o normal e conter urina vermelho-escura e coágulos (Souto et al. 2006, Oliveira 2009, Yücel Tenekeci et al. 2017). Ainda, pode haver presença de formações tipo cacho de uva, com nódulos de base larga, consistência firme e coloração acinzentada. A mucosa da bexiga pode estar coberta por elevações planas, rugosas, de coloração que variam de vermelha a alaranjada, que por vezes formam aglomerados (Tokarnia et al. 1969); os bovinos podem apresentar mucosas pálidas e sangue de aspecto aquoso (anemia) (Souto et al. 2006).

Na Região Sudeste, a HE bovina é responsável por elevadas perdas econômicas, devidas não apenas ao óbito, mas também em função da queda de produtividade. Na região, essa condição, verificada em muitas áreas altamente invadidas por *P. esculentum* subsp. *arachnoideum*, tem inviabilizado numerosas pequenas explorações ligadas à bovinocultura de leite. Essa situação redundou em migração de pequenos produtores que vendem suas propriedades - por impossibilidade de delas tirarem seu sustento - e são compelidos a instalarem-se na periferia de cidades próximas (Galvão & Peixoto 2012). No Município de São José do

Barreiro/SP, há aproximadamente 13 anos, alguns produtores de áreas com alta incidência de HEB vêm substituindo os bovinos por búfalos, com base na suposição de que estes seriam mais resistentes que o gado bovino. Embora observações iniciais sugiram que realmente os búfalos sejam mais resistentes que os bovinos ao princípio tóxico de *Pteridium* spp. recentemente tem-se verificado a ocorrência de casos de hematuria nessa espécie (Galvão & Marques 2017). O presente trabalho tem como objetivo relatar a ocorrência de HE em búfalos no Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de ocorrência. A intoxicação natural ocorreu em propriedades com criação de bubalinos, em local conhecido como Sertão da Onça, no Município de São José do Barreiro, SP.

Visitas à propriedade. Nas visitas feitas a nove propriedades, foi realizada investigação direcionada para caracterizar a intoxicação por *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum* em bubalinos em seus aspectos epidemiológicos e clínico-patológicos. Durante as visitas, foram observados apenas dois bubalinos, de propriedades distintas, com hematuria. Os rebanhos dessas propriedades eram pequenos, constituídos de 25 a 50 búfalos em média. Ainda, cinco bubalinos, oriundos dessa região estudada, com histórico de hematuria foram identificados e enviados para o abate devido ao prognóstico desfavorável. Foi possível acompanhar o abate e colher material de três búfalas.

Avaliação dos animais vivos. Foi levantado o histórico dos animais com os compradores/vendedores de gado no dia do abate dos bubalinos. Neste mesmo dia, foram realizadas avaliações visuais dos mesmos no curral de espera dos frigoríficos e matadouro. Observaram-se comportamento (nível de consciência, postura e locomoção, pelagem, forma abdominal, características respiratórias) segundo Feitosa et al. (2014); coloração da urina e avaliação do Escore de Condição Corporal (ECC), baseado em uma escala de 1 a 5 de acordo com Anitha et al. (2011).

Exame de urina: Foi possível colher urina *ante mortem* de apenas uma das três búfalas abatidas. Essa amostra foi enviada ao Laboratório de Patologia Clínica do Instituto de Veterinária (IV) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ para realização de urinálise.

Colheitas de material. Bexigas, ureteres e rins dos três animais abatidos nos frigoríficos Qualicarnes (Barra Mansa, RJ), Cleumar (Cruzeiro, SP) e Matadouro Municipal 1970 (Bananal, SP), foram colhidas para estudo macroscópico e histopatológico. As três bubalinas foram identificadas como Búfala 1 – SAP 35208, Búfala 2 – SAP 35240 e Búfala 3 – SAP 35241.

Histopatologia. Os fragmentos dos órgãos coletados foram fixados em formalina tamponada a 10% para exame histopatológico e foram revisados por três patologistas. O material foi processado rotineiramente, corado pela Hematoxilina-Eosina (H.E.) e as lâminas foram montadas para observação em microscópio ótico. O processamento do material foi realizado pelo Setor de Anatomia Patológica (SAP) do IV/UFRRJ.

A classificação histológica (Anexos A-G) desse estudo foi baseada nas classificações humanas usadas pelo Instituto de Patologia das Forças Armadas dos Estados Unidos da América (AFIP), elaborada por Murphy et al. (1994) e na nomenclatura empregada no livro Ackerman's Surgical Pathology, usada por Ordóñez & Rosai (1996). Adicionalmente, com base na revisão de literatura foram utilizadas classificações para variantes histológicas dos carcinomas uroteliais invasivos de acordo com a Classificação Morfológica da Organização Mundial da Saúde (OMS) para tumores uroteliais humanos (Lopez-Beltran et al. 2004, Cheng & Lopez-Beltran 2016, Humphrey et al. 2016) e com os padrões utilizados para bovinos com Hematuria Enzoótica (França 2002, Peixoto et al. 2003, Carvalho et al. 2006, Roperto et al. 2010). As lesões não neoplásicas, quando possível, foram enquadradas nos padrões descritos por França (2002), Peixoto et al. (2003), Carvalho et al. (2006), Roperto et al. (2010) e Meuten (2017). Os carcinomas uroteliais foram graduados em quatro níveis (grau 1 a 4), como proposto por Cheng et al. (2012) para humanos, e adaptados para animais domésticos, como baixo e alto grau (Meuten 2017). Também foi realizado o estadiamento patológico de níveis de invasão tumoral baseado no sistema TNM (Cheng & Lopez-Beltran 2016).

PCR: Uma amostra de bexiga de cada animal (Búfala 1, Búfala 2 e Búfala 3) inclusa em parafina, após ser fixada em formalina tamponada a 10% e processada rotineiramente pelo Setor de Anatomia Patológica (SAP) do IV/UFRRJ foi enviada ao Laboratório de Virologia do Departamento de Patologia Clínica Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para realização de RT-PCR (Real time polymerase chain reaction) para detecção de um fragmento de 480 pb do genoma de papilomavírus bovino (Forslund et al. 1999).

RESULTADOS

Dados epidemiológicos. O levantamento epidemiológico, realizado entre os anos de 2017 e 2019, na região serrana, conhecida como Sertão da Onça, localizada no Município de São José do Barreiro, SP, revelou que todas as propriedades visitadas estavam muito invadidas por *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum*. Segundo relato dos proprietários, uma prática comum adotada por eles era a de roçar os pastos durante o ano e plantar *Brachiaria* sp. (Fig. 1). A maioria das propriedades pertencia a pequenos produtores de leite, os quais, além da atividade principal (criação de bubalinos de leite), mantinham também alguns bovinos destinados à produção de leite e de corte. Todo o leite produzido era destinado à produção de queijo, o qual era vendido para a região metropolitana do Rio de Janeiro.



Fig. 1. Hematúria Enzoótica em Búfalos no Brasil. (A) Rebrota de *P. esculentum* subsp. *arachnoideum* na pastagem de *Brachiaria*. Detalhe da foto: a planta em meio à pastagem. (B e C) Bubalino em pastagem invadida por *P. esculentum* subsp. *arachnoideum*; (D) Propriedade com pastagem formada de *Brachiaria* e invadida por samambaia, com placa de vende-se.

A bubalinocultura leiteira foi inserida na região há aproximadamente 13 anos, com base na premissa de que estes seriam mais resistentes à intoxicação por *P. esculentum* subsp. *arachnoideum* que o gado bovino. Dos 12 produtores de leite da região, dez substituíram os bovinos por bubalinos ou inseriram os bubalinos na atividade leiteira. Todos relataram estar muito satisfeitos com a criação de bubalinos e afirmaram que os búfalos são mais resistentes que os bovinos ao “problema de urinar sangue”, e ainda exemplificam dizendo “aqui uma bezerra (bubalina) se torna búfala, enquanto uma bezerra (bovina) morre

antes de virar vaca". Muitos proprietários também dizem que "bovinos com 2 a 3 crias já urinam sangue, já os búfalos só depois de 5 a 6 crias" e que "a cada 5 anos, aparece um búfalo urinando sangue"; "no meio de 50 búfalos apenas uma urina sangue".

As criações eram todas a pasto e algumas suplementavam os animais, na época seca do ano, com polpa cítrica e concentrado. Essas pastagens, em sua maioria, eram constituídas de *P. esculentum* subsp. *arachnoideum* (70 a 90%) e *Brachiaria* sp. (10 a 30%).

A Hematúria Enzoótica Bovina (HEB) já é uma doença bem conhecida pelos produtores da região, apesar de poucos acreditarem que ela está direta e exclusivamente associada à ingestão de *Pteridium* sp. A percepção da maioria deles é de que a HEB ocorra pelo consumo da *Brachiaria* sp. ou mesmo pela associação das duas plantas. Os produtores alegam que os casos de HEB passaram a existir após a introdução de *Brachiaria decumbens* (var. australiana) no início dos anos 70.

Durante o período de visitas, foi comunicado que cinco búfalas com hematúria, oriundas de distintas propriedades, todas localizadas no Município de São José do Barreiro, SP, foram vendidas para compradores de gado da região e seriam abatidas. Foi possível acompanhar o abate e colher material de três búfalas.

Achados clínico-patológicos. Durante a anamnese, realizada com compradores/vendedores de gado, verificou-se que estes tinham poucas informações sobre os animais. Foi relatado por eles que todos "urinavam sangue" (hematúria), que eram fêmeas adultas de aptidão leiteira e com idade entre 6 e 8 anos. As três búfalas apresentavam nível de consciência (alerta), postura e locomoção normais. A pelagem das três búfalas estava limpa, brilhante e sem ectoparasitas. A forma abdominal das três búfalas estava normal. A urina da Búfala 1 era de coloração vermelha. O Escore de Condição Corporal (ECC) foi de 3,5; 2,5 e 3,0, respectivamente, para as búfalas 1, 2 e 3 (Fig. 2).

A urinálise da Búfala 1 caracterizou-se por urina avermelhada de aspecto turvo, densidade específica de 1,034, pH alcalino (9,0) e presença de intensa quantidade de sangue e proteínas. Na sedimentoscopia, as hemácias por campo eram incontáveis e os demais parâmetros tiveram a leitura prejudicada devido à intensa hematúria.

Foram colhidos bexiga, ureteres e rins das três búfalas, sendo que os achados macro e microscópicos estão descritos abaixo.

- A) **Macroscopia:** As alterações macroscópicas das bexigas das Búfalas 1 e 2 eram semelhantes e caracterizavam-se por mucosa brilhante, pregueada e difusamente edemaciada/espessa, de consistência macia a gelatinosa com aspecto "cerebriforme". As lesões proliferativas eram multifocais disseminadas de 0,3 a 2cm, firmes a elásticas, circunscritas e sésseis com superfície lisa ou arboriformes e pedunculadas. A cor das lesões variava desde esbranquiçada a vermelho acastanhada. Havia poucos focos de erosões, petéquias e equimoses com coágulos intravesicais. A bexiga da Búfala 3, além das alterações já descritas para as Búfalas 1 e 2, apresentava lesão ulcerada, proliferativa, expansiva (transmural), de 14cm de diâmetro. O contorno e a superfície eram acentuadamente irregulares com áreas que variavam de cinza a vermelho-escuro. Aderido a essa lesão havia grande quantidade de exsudato fibrino-supurativo esverdeado, além de coágulos de sangue. Adicionalmente, em outro local, havia formação de uma placa, de superfície branca, de contorno irregular bem definido com aproximadamente 1,5 x 2,0cm (semelhante à leucoplaquia) (Fig. 3). A mesma búfala apresentava pielite supurativa com dilatação dos cálices. Os ureteres apresentavam parede moderadamente espessa e o esquerdo estava moderadamente dilatado por conteúdo serosanguinolento, com presença de sufusões multifocais na mucosa e uma lesão circunscrita, levemente elevada de coloração marronzada, localizada em seu segmento cranial. O parênquima renal apresentava superfície levemente irregular com áreas pálidas e equimoses multifocais. Ao corte, foram observadas discretas áreas lineares esbranquiçadas, por vezes coalescentes, distribuídas irregularmente na medula (pielonefrite).

Durante a colheita das amostras, foi observado, nas três búfalas, útero gravídico com fase gestacional de aproximadamente 90 dias, de acordo com a morfometria fetal (Abdel-Raouf & El-Nagga 1968).

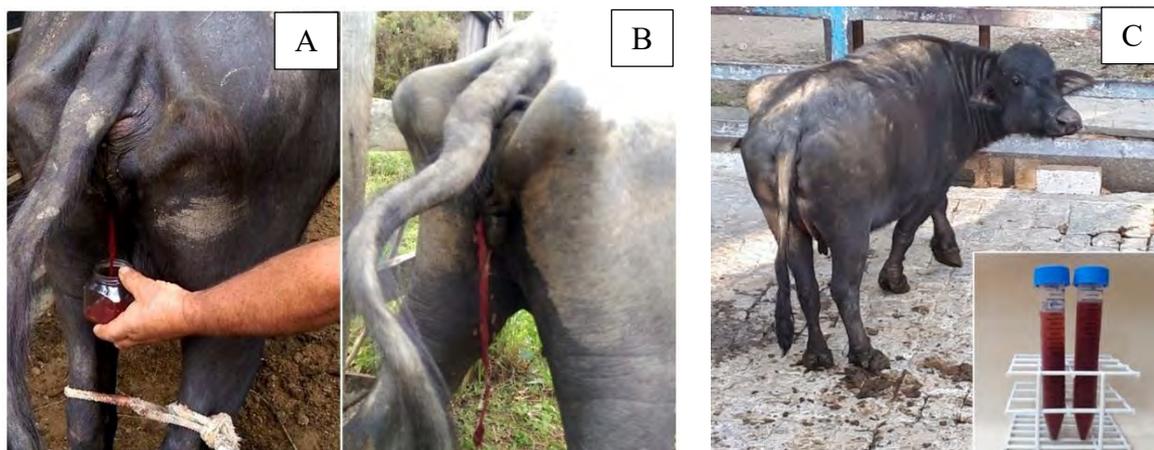


Fig. 2. Hematúria Enzoótica em Búfalos no Brasil. (A e B) Búfalas com urina avermelhada (Hematúria Enzoótica); **(C)** Búfala 1 no curral de espera do frigorífico, apresenta Escore de Condição Corporal (ECC) de 3,5 (escala de 1 a 5). Detalhe da foto: urina da Búfala 1 de coloração vermelha.

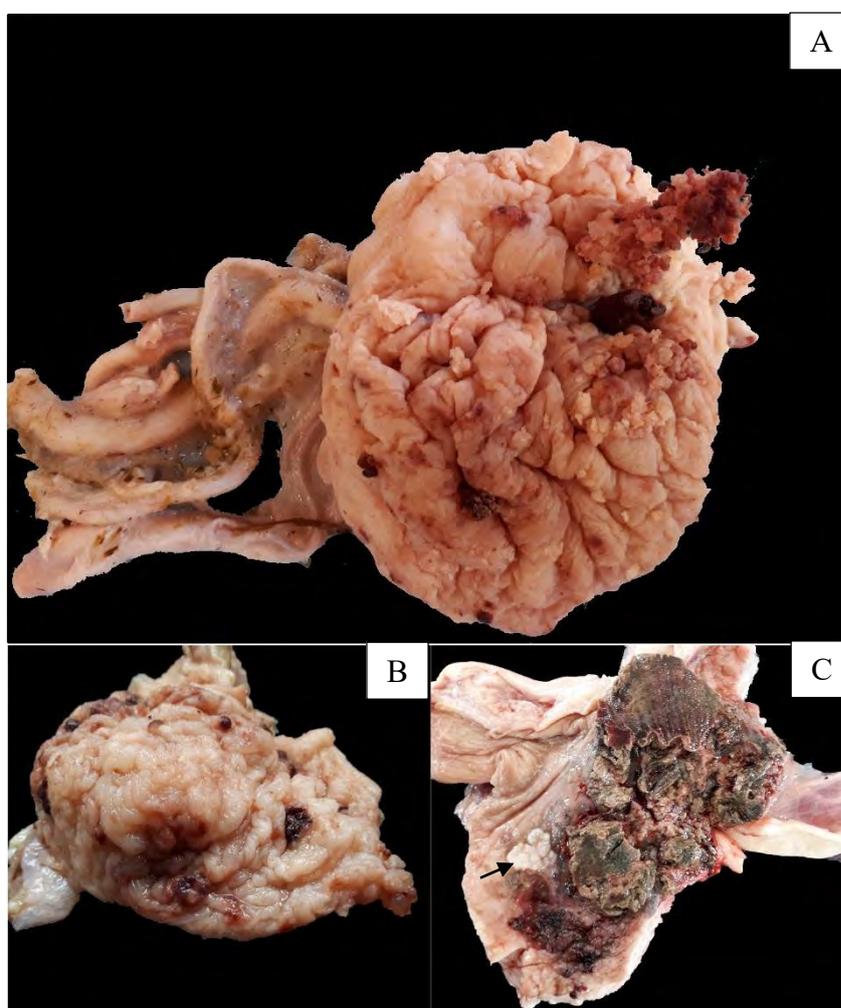


Fig. 3. Hematúria Enzoótica em Búfalos no Brasil. (A) Bexiga Búfala 1, após fixação. **(B)** Bexiga da Búfala 2, sem fixar. **(A e B)** Mucosa brilhante, acentuada e irregularmente pregueada e difusamente edemaciada/espessa, de consistência macia a gelatinosa com aspecto "cerebriforme". As lesões proliferativas eram multifocais disseminadas de 0,3 a 2cm, firmes a elásticas, circunscritas e sésseis com superfície lisa ou arboriformes e pedunculadas. **(C)** Bexiga Búfala 3, após fixação em formalina tamponada à 10%. Lesão proliferativa, expansiva, infiltrativa (transmural) e ulcerada. Formação de

uma placa, de superfície branca, irregular e firme, de contorno bem definido, semelhante à leucoplaquia (seta).

B) Microscopia: as alterações encontradas nas bexigas das três búfalas foram divididas em lesões não-neoplásicas (Tabela 1) e neoplásicas (Tabela 2). As lesões não-neoplásicas foram subdivididas em displasia (Fig. 4), metaplasia (Fig. 5 e 6), hiperplasia (Fig. 7 e 8), inflamação (Fig. 9 e 10), proliferação e lesão vascular não neoplásica (Fig. 11), hemorragia, fibrose ou fibroplasia e outras alterações (Fig. 12 e 13). Em relação às lesões neoplásicas, observaram-se carcinomas uroteliais enquadrados em todos os graus (1 a 4) e baixo (Fig. 14) e alto grau (Fig. 15, 16, 17 e 18) equivalentes. A maioria das neoplasias invasivas estava em um estadiamento T1, em todas as búfalas, ou seja, invadiam apenas a lâmina própria (tecido conjuntivo) subjacente ao epitélio. Apenas a Búfala 3 apresentou carcinoma em estadiamento T2b (com invasão da musculatura externa). Como esperado, praticamente todos os tumores invasivos eram grau 3 ou 4 (alto grau), e muito raramente, grau 2 (baixo grau). As variantes histológicas dos carcinomas invasivos presentes nas amostras analisadas foram: invertido (Fig. 18), trabecular (Fig. 19), microcístico (Fig. 20 e 21) e diferenciação divergente. Carcinoma urotelial com diferenciação divergente, escamosa (Fig. 22) e glandular (apócrina – Fig. 23) foi observado na bexiga da Búfala 1 e, na Búfala 3, apenas escamosa. O carcinoma *in situ* (Fig. 24 e 25) foi observado na Búfala 1 e 2 e, frequentemente, estava próximo a áreas de invasão. O carcinoma de células escamosas (Fig. 26) também estava presente apenas em uma das amostras, e apresentava áreas com estadiamento T1 (Tabela 2). Todas as búfalas apresentaram papilomas (Fig. 27) e hemangiomas (o cavernoso mais comum do que o capilar) (Fig. 28); uma búfala (búfala 1) apresentava hemangioma cavernoso convergindo com carcinoma urotelial papilar de alto grau (Fig. 29). Em todas as búfalas foram encontrados hemangiossarcomas, enquanto que a búfala 1 apresentava apenas o que denominamos de hemangiossarcoma incipiente pela formação de vasos estruturalmente bem formados, mas com elevada atipia endotelial (Fig. 30). A búfala 3 era que apresentava maior número de hemangiossarcomas, que eram maiores e mais invasivos (estágio T2b) com áreas bem diferenciadas (Fig. 31), epitelioides (Fig. 32) e pouco diferenciadas (Fig. 33). Devido à diversidade e à coexistência de mais de uma alteração histopatológica em uma mesma bexiga, os achados microscópicos estão listados nas Tabelas 1 e 2 para melhor visualização e compreensão das lesões encontradas em cada búfala.

Adicionalmente, nos ureteres da Búfala 3 havia acentuado edema transmural acompanhado de proliferação fibroblástica, além de erosão multifocal do urotélio e infiltrado inflamatório linfoplasmocitário e macrófágico com raros eosinófilos, subepitelial, difuso, discreto a moderado. Os ureteres da Búfala 1 não apresentavam alterações relevantes e não foi possível colher e avaliar os ureteres da Búfala 2.

Nos rins, as Búfalas 1 e 2 evidenciaram evidente anisocariose das células dos tubos coletores nas proximidades da pelve, depósito mucinoso intersticial junto à pelve e tumefação de grupos de células dos ductos coletores. Nos rins da Búfala 3 havia leve a moderada glomerulonefrite segmentar, necrose, degeneração e hiperplasia com atipia de células tubulares (regeneração tubular), principalmente de ductos coletores, nos quais notava-se revestimento por células grandes e atípicas com megacariose acentuada e figuras de mitose atípicas (tripolares) (Fig. 34). Na pelve visualizava-se interstício com aspecto moderadamente edematoso e diferenciação mixoide intimomedial em artéria muscular, além de proliferação papiliforme epitelial tipo hiperplasia papilar e áreas de degeneração e necrose do urotélio com infiltrado neutrocitário. A descrição detalhada dos achados histopatológicos de cada búfala encontra-se no Anexo H.

PCR: O resultado do teste para detecção de papilomavírus bovino nas amostras de pool de bexigas das três búfalas foi negativo.

TABELA 1. Avaliação microscópica das lesões não-neoplásicas nas bexigas de bubalinos com Hematúria Enzoótica.

Protocolo	Atipia e Displasia	Metaplasia	Hiperplasia	Cistite	Outras	Proliferação Vascular	Lesão Vascular	Hemorragia	Fibrose ou fibroplasia
Búfala 1 SAP 35208	atipia reativa; displasia I a III	escamosa	plana; papilar; ninhos de Brunn	folicular; polipoide; ulcerativa; glandular folicular;	amiloide; estroma mixoide	atípica, com estrutura tipo tecido de granulação	degeneração mixoide (artéria muscular)	+	+
Búfala 2 SAP 35240	atipia reativa; displasia II, III	escamosa; intestinal	plana; papilar; ninhos de Brunn	folicular; polipoide; ulcerativa; cística; glandular;	estroma mixoide	atípica, com estrutura tipo tecido de granulação	degeneração mixoide (artéria muscular); hialinização de pequenos vasos	+	+
Búfala 3 SAP 35241	atipia reativa; displasia II	escamosa; intestinal; escamosa com paraqueratose acentuada	plana; papilar; ninhos de Brunn	intestinal folicular; polipoide; cística; glandular; ulcerativa com inflamação crônico-ativa e inúmeras colônias bacterianas	estroma mixoide; ectasia de linfático; área de leucoplaquia	atípica, com estrutura tipo tecido de granulação	degeneração mixoide (artéria muscular); hialinização de pequenos vasos	+	+

Legenda: += presente

Grau de displasia: I = leve; II = Moderado; III = Severo

TABELA 2. Avaliação microscópica das lesões neoplásicas nas bexigas de bubalinos com hematúria enzoótica.

Protocolo	Tumores epiteliais						Tumores vasculares				
	Papiloma	Carcinoma <i>in situ</i>	Carcinoma urotelial (baixo grau)		Carcinoma urotelial (alto grau)		Variante histológica do carcinoma urotelial	Carcinoma de células escamosas	Hemangioma	Linfangioma	Hemangiossarcoma
			Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4					
Búfala 1 SAP 35208	+	+	+Ta	+Ta, T1	+Ta, T1	+T1	diferenciação divergente escamosa; glandular (apócrina e intestinal) T1; invertido; microcístico	-	+ colisão com carcinoma papilar	-	+ incipiente
Búfala 2 SAP 35240	+	-	+Ta	+Ta	+T1	+T1	microcístico	-	+	-	+
Búfala 3 SAP 35241	+	-	-	+Ta	+T1	+T1, T2b	diferenciação divergente escamosa T2b; trabecular* T1; microcístico	+ T1	+	+	+

Legenda: +=presente -=ausente

CIS= Carcinoma in situ

T= invasão, onde:

Ta: Carcinoma papilar não invasivo

T1: invasão da lâmina própria (tecido conjuntivo subepitelial)

T2: com invasão da muscular

T2a: Superficial (metade interna)

T2b: Profunda (metade externa)

*Trabecular: carcinoma urotelial em arranjo trabecular, não enquadrado nas variantes da OMS.

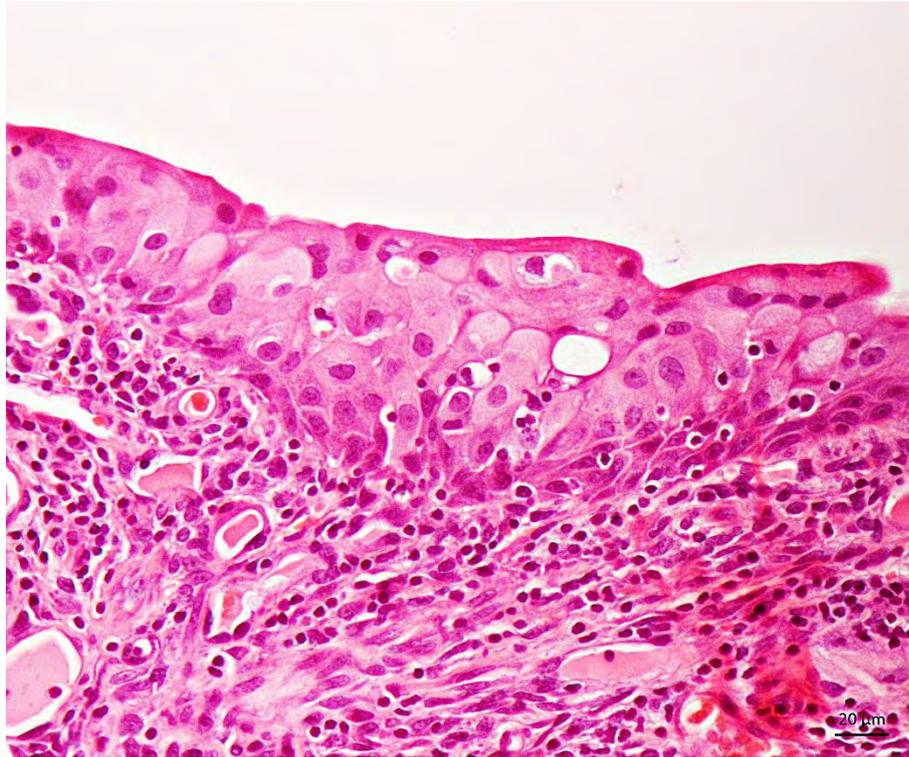


Fig. 4. Displasia e atipia reativa: a maturação celular é mantida, há discreta perda da polaridade com aumento uniforme das células intermediárias que apresentam núcleos com cromatina finamente esparsa e uniforme, pequeno nucléolo e discreta quantidade de núcleos maiores; notar intenso infiltrado inflamatório linfocítico que se estende da lâmina própria e infiltra o urotélio. HE, obj.40x.

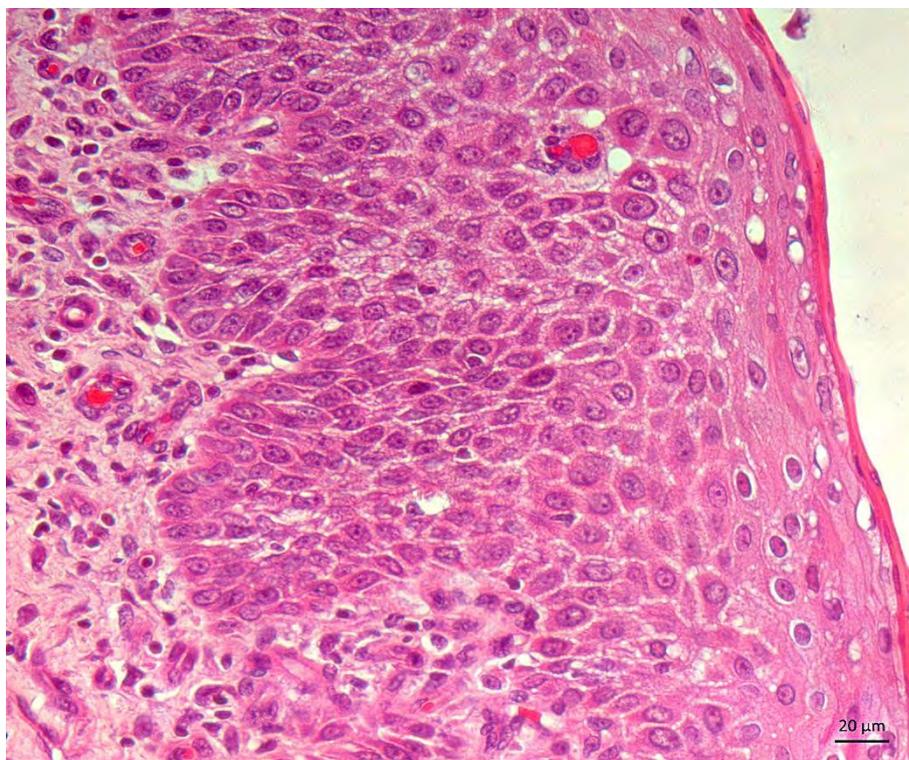


Fig. 5. Metaplasia Escamosa: o epitélio pavimentoso estratificado pouco queratinizado (paraqueratinizado); notar pontes intercelulares evidentes. HE, obj.40x.

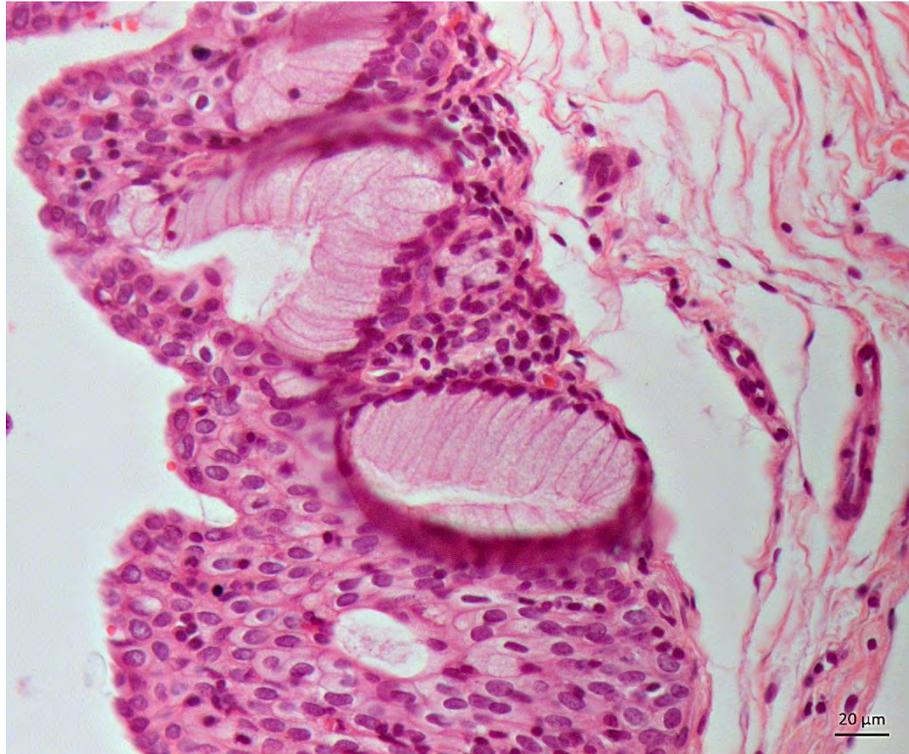


Fig. 6. Metaplasia Intestinal: o urotélio encontra-se hiperplásico com formação de focos de diferenciação mucinosa de células caliciformes. HE, obj.40x.

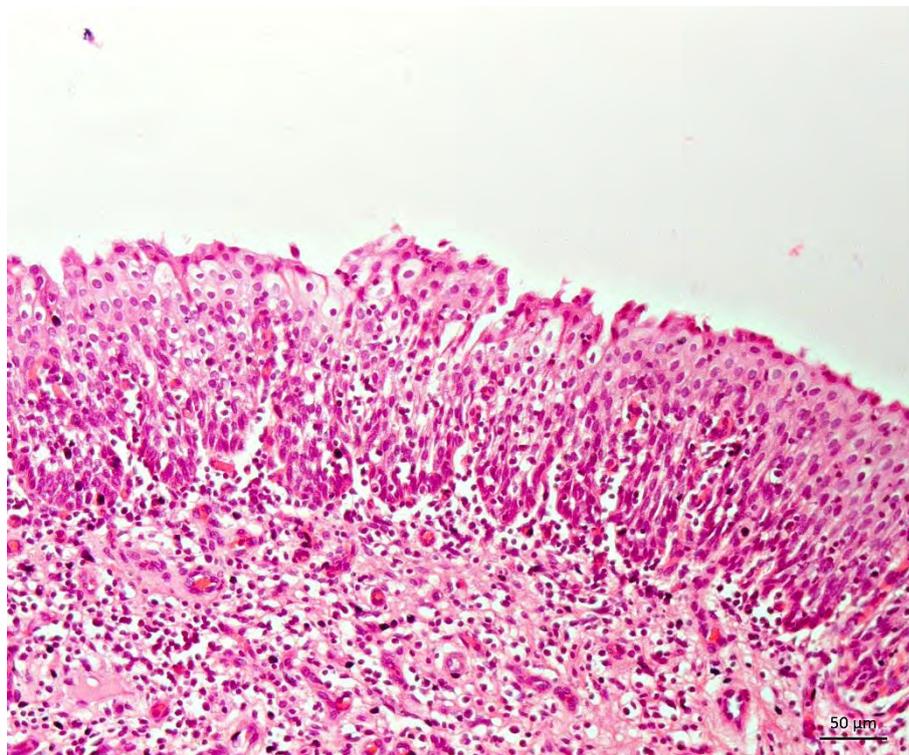


Fig. 7. Hiperplasia Plana: proliferação uniforme das células uroteliais basais e intermediárias que formam vários estratos ou pseudoestratos; as células superficiais (“umbrella cells”) estão presentes, há infiltrado inflamatório linfocítico na lâmina própria e entre as células uroteliais, mas não há atipia celular nem desorganização das camadas celulares. HE, obj.20x.

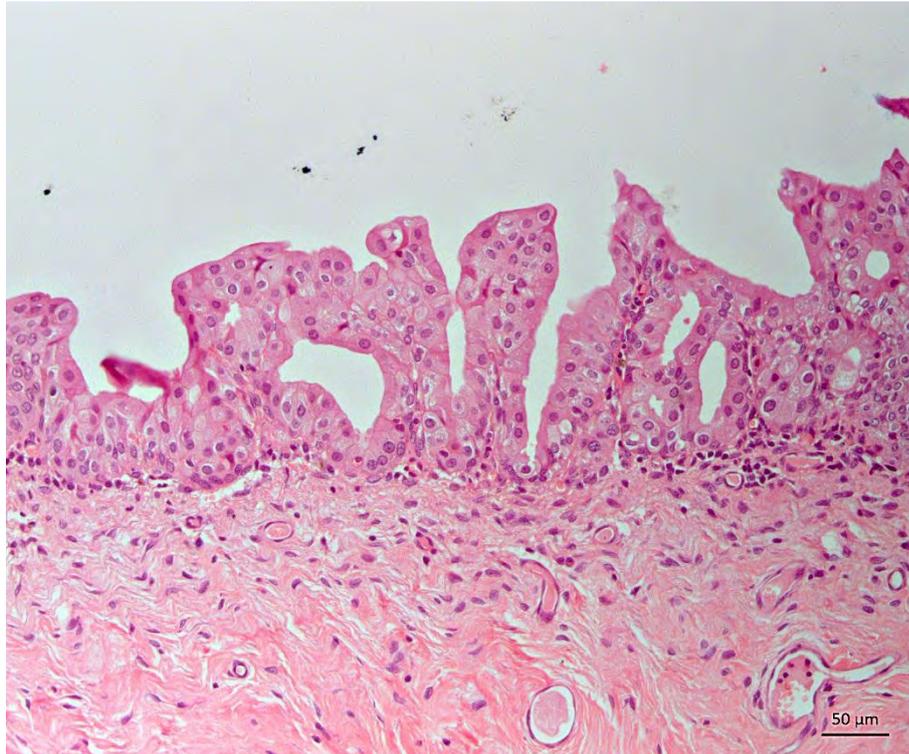


Fig. 8. Hiperplasia Papilar: projeções multifocais do urotélio proliferado, sem atipia significativa, sustentadas por mínimo estroma conjuntivo. HE, obj.20x.

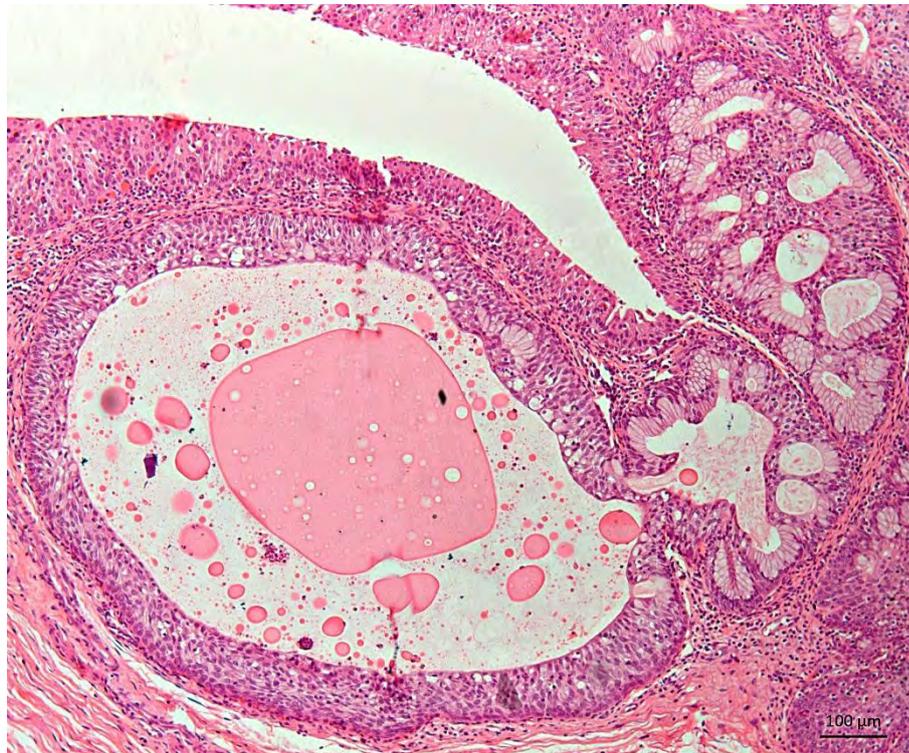


Fig. 9. Cistite cística e glandular com diferenciação intestinal: ninhos de Brunner com presença de lúmen moderadamente dilatado por material eosinofílico e globular (cistite cística) e concomitantes áreas de diferenciação glandular com epitélio colunar e células caliciformes (cistite glandular). No estroma circunjacente, há discreto infiltrado inflamatório linfocítico. HE, obj.10x.

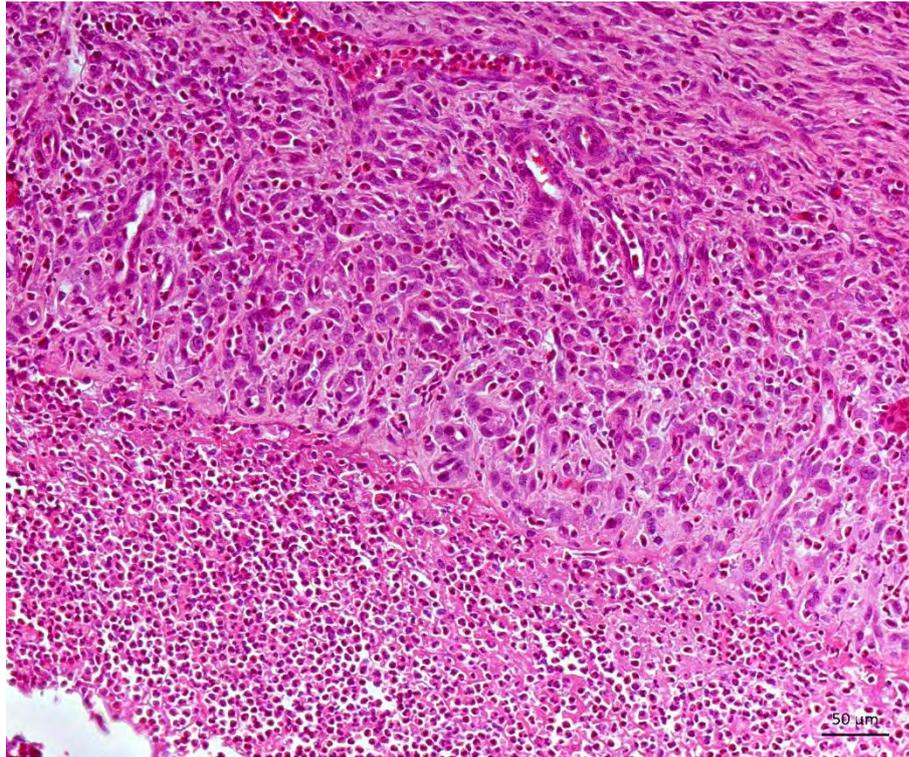


Fig. 10. Cistite ulcerativa crônico-ativa: há perda do revestimento urotelial com exposição da própria que apresenta vasos neoformados proliferados e infiltrado inflamatório misto (predominantemente macrófagos e neutrófilos), com sua superfície recoberta majoritariamente por neutrófilos, fibrina e detritos celulares. HE, obj.20x.

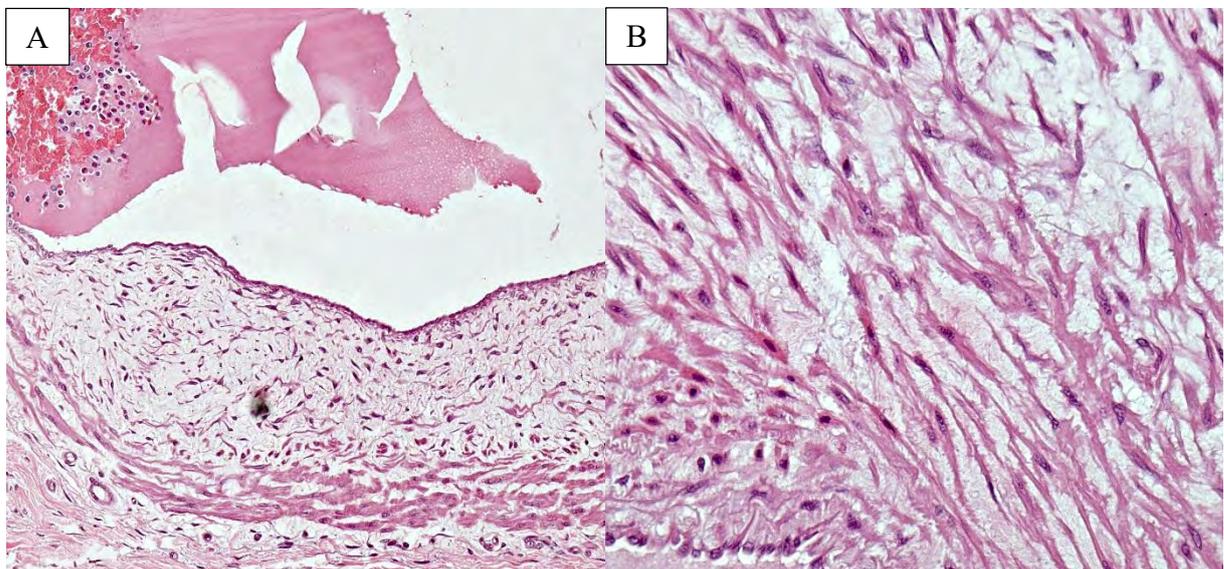


Fig. 11. (A e B) Degeneração mixoide intimomedial vascular (arterial): a túnica íntima e média das artérias musculares, apresenta estroma mixoide e esparsas células fusiformes, algumas ainda com características de leiomíócitos, mas outras com aspecto estrelado e alguma atipia nuclear. HE, obj.20x. e HE, obj.40x.

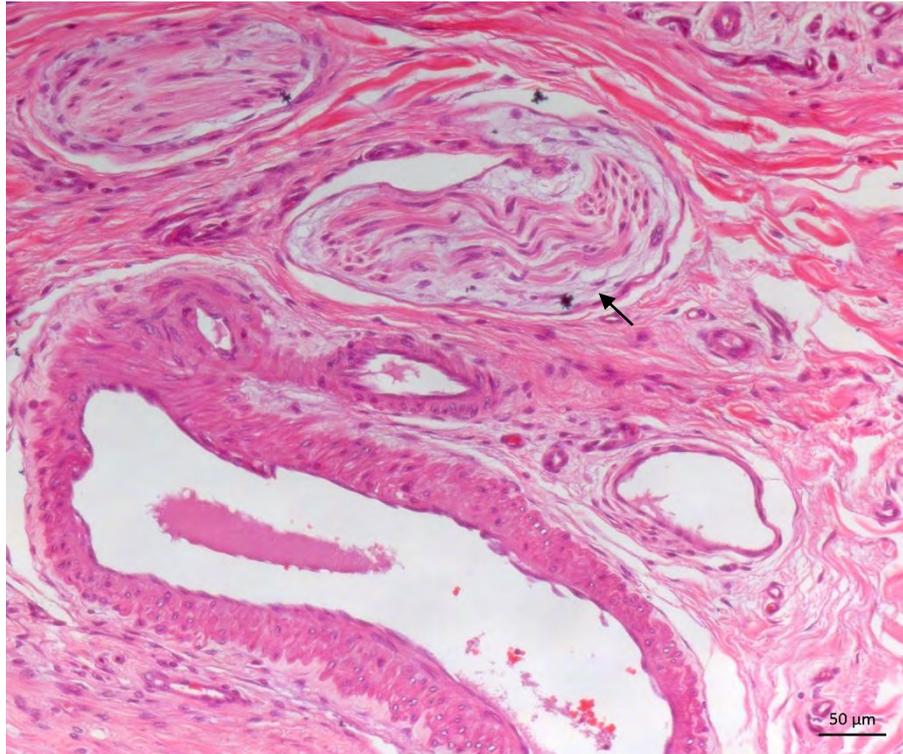


Fig. 12. Leve edema/diferenciação mixoide perineural. Há leve espaçamento celular por substância não corada que expande o epineuro e perineuro (seta); notar a presença de célula com núcleo grande e irregular. HE, obj.20x.

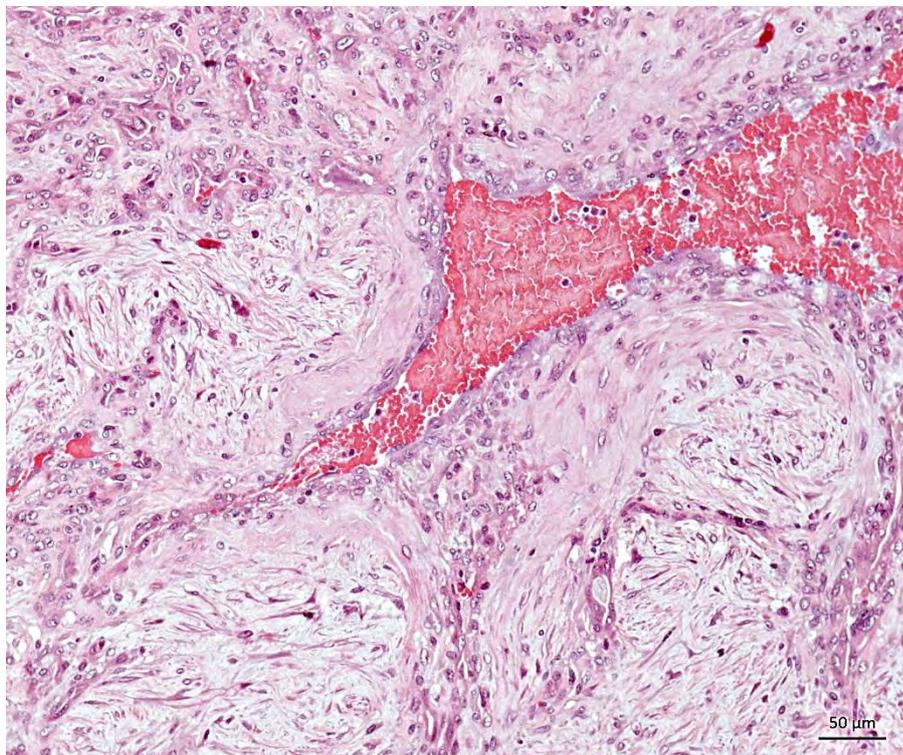


Fig. 13. Diferenciação mixoide do estroma: células mesenquimais fusiformes alongadas e delgadas, que estão espaçadas por abundante matriz extracelular. Os vasos sanguíneos proliferados com células endoteliais atípicas. HE, obj.20x.

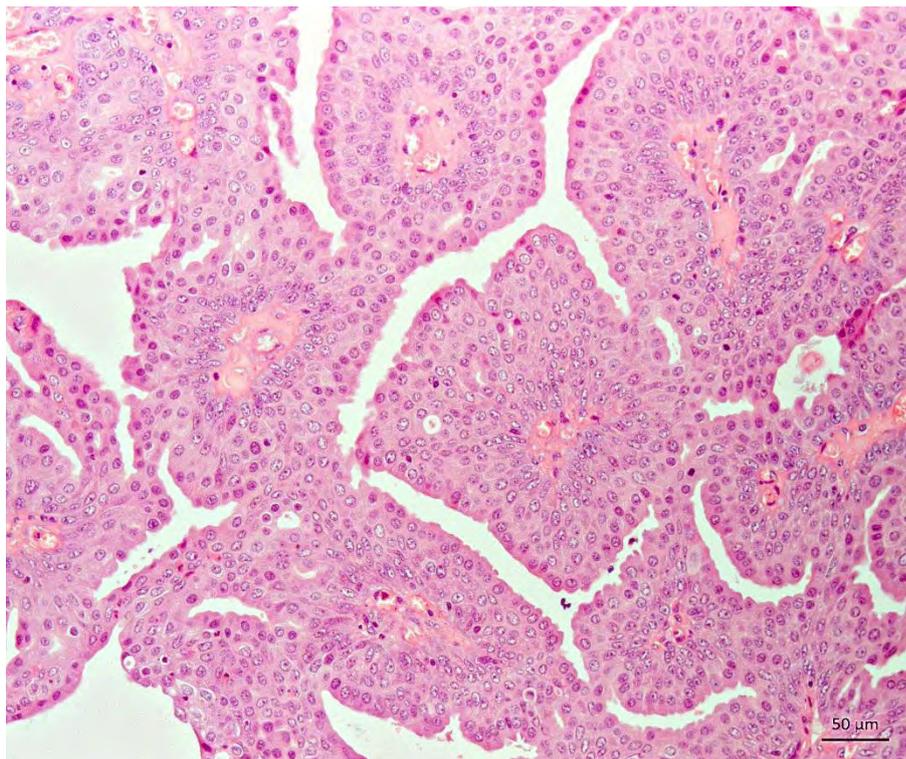


Fig. 14. Carcinoma Urotelial papilar baixo grau: papilas ramificadas com anastomoses, revestidas por células pouco atípicas, irregularidade arquitetônica, sem hiperchromasia e nucléolo discreto quando presente. HE, obj.20x.

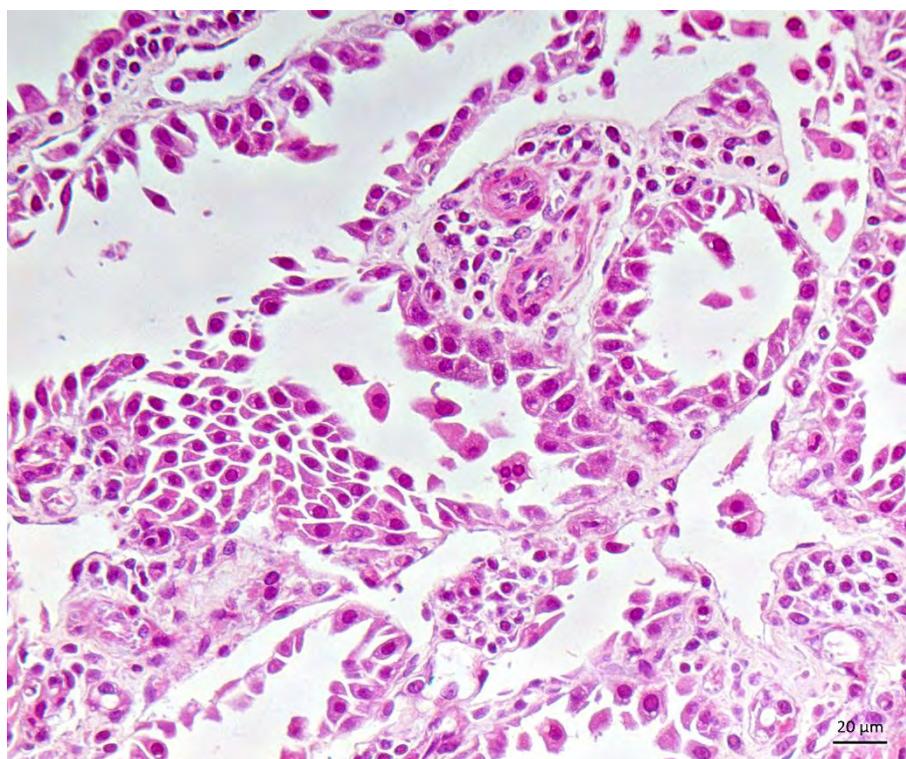


Fig. 15. Carcinoma Urotelial papilar alto grau: as projeções papilares sustentadas por fino estroma fibrovascular são revestidas por células com acentuada perda da adesividade, núcleo hiperchromático, e lembram lesões mesoteliais. HE, obj.40x.

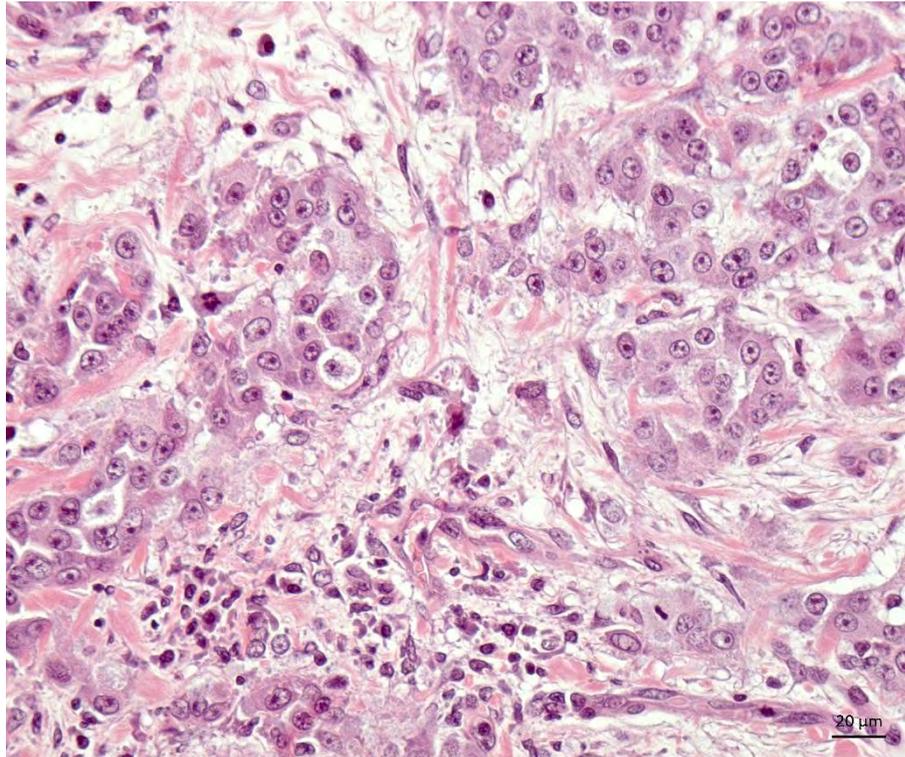


Fig. 16. Carcinoma Urotelial Alto Grau pouco diferenciado: células neoplásicas infiltradas em estroma edematoso, arranjadas em pequenos grupos ou individualizadas com anisocariose moderada e um a dois nucléolos evidentes. HE, obj.40x.

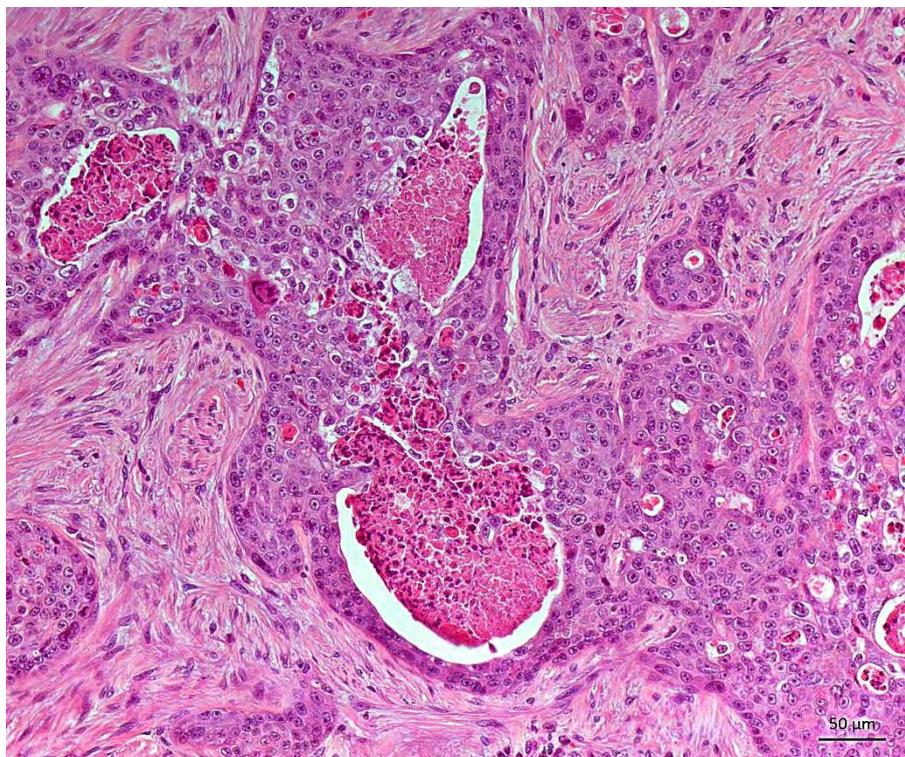


Fig. 17. Carcinoma Urotelial Alto Grau com áreas de necrose: células neoplásicas com moderado pleomorfismo nuclear, arranjadas em largas trabéculas ou ninhos irregulares com centro de detritos celulares. HE, obj.20x.

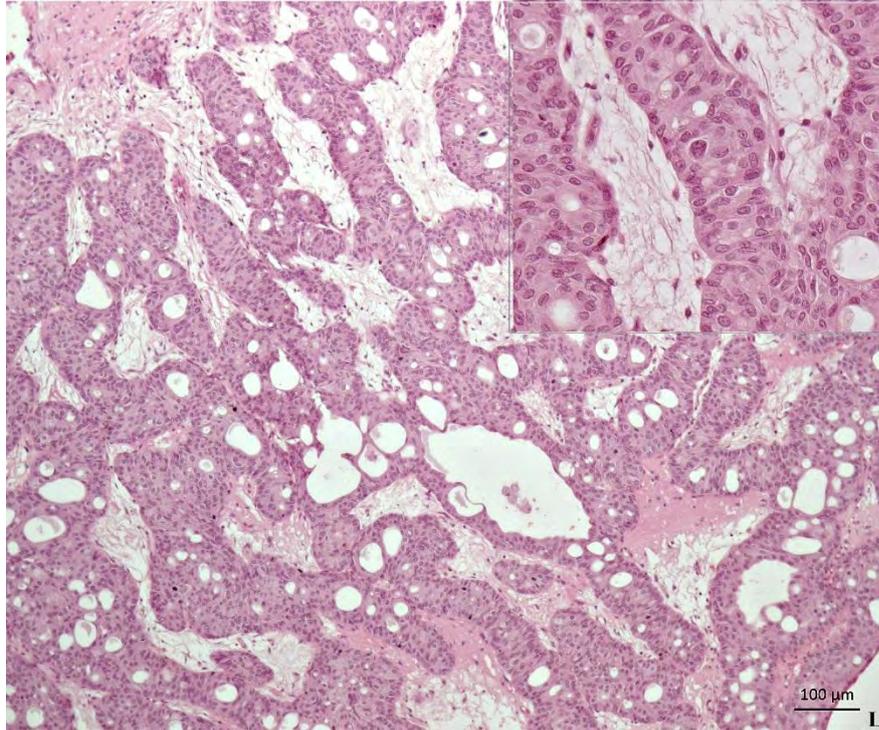


Fig. 18. Carcinoma Urotelial Alto Grau com cistos intraepiteliais semelhantes a lúmen glândular: as células neoplásicas proliferam em contiguidade com o urotélio de revestimento, se projetam para a lâmina própria em arranjo trabecular anastomosado; há perda da maturação e do arranjo ordenado do urotélio normal, além de anisocariose moderada (detalhe). HE, obj.10x.

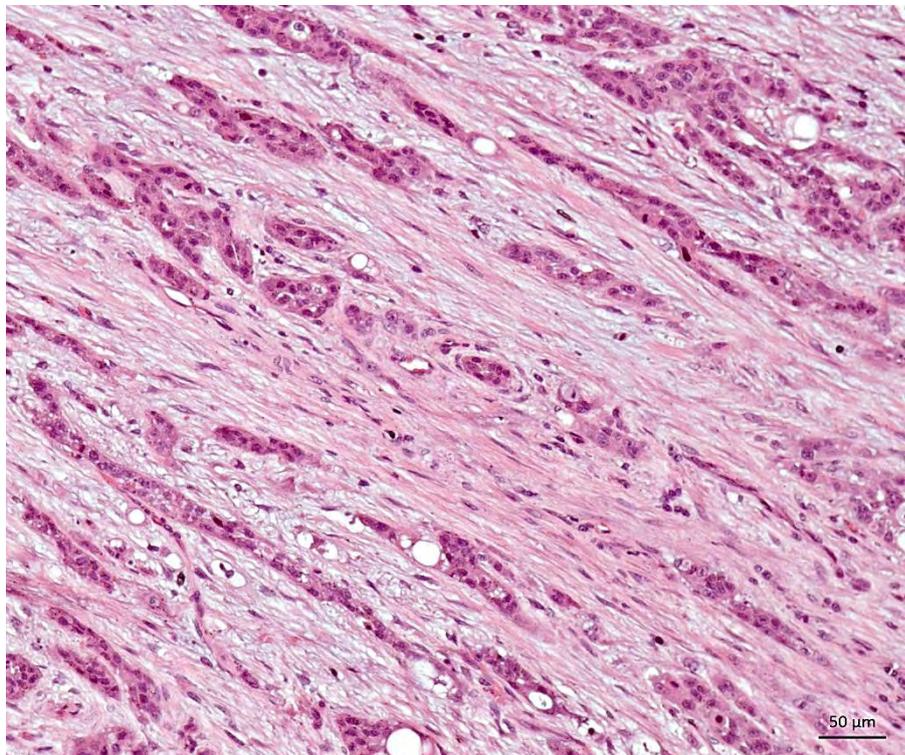


Fig. 19. Carcinoma Urotelial Alto Grau em arranjo Trabecular: nota-se células pequenas arranjadas em finas trabéculas infiltradas em estroma densamente fibroso modelado (fibras em única direção). HE, obj.20x.

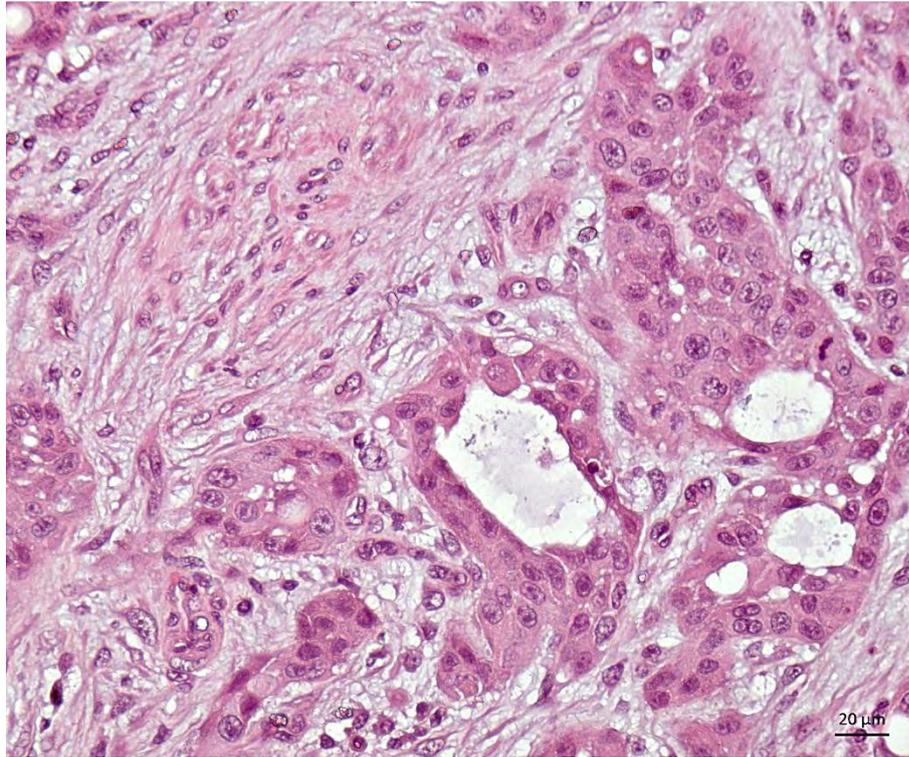


Fig. 20. Carcinoma Urotelial Microcístico em Diferentes Apresentações: lúmen com material levemente eosinofílico revestido por duas camadas de células epiteliais cúbicas a cilíndricas baixas, com formação de cistos. HE, obj.40x.

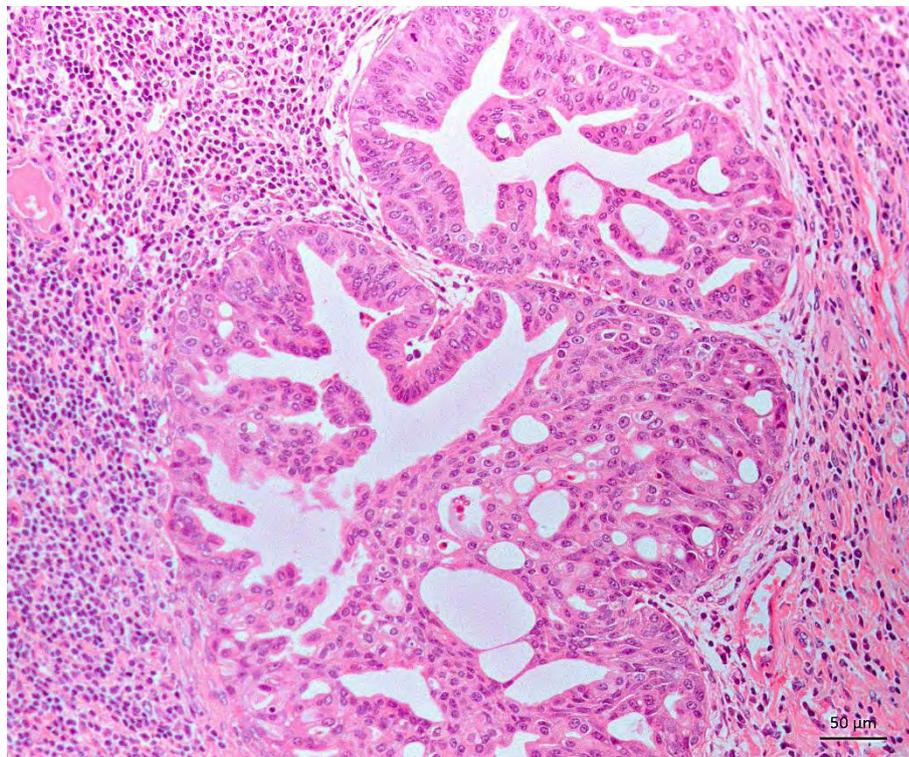


Fig. 21. Carcinoma Urotelial Microcístico em Diferentes Apresentações: lúmen irregular, revestido por células uroteliais que variam de cilíndricas a cúbicas com formação de cistos. HE, obj.20x.

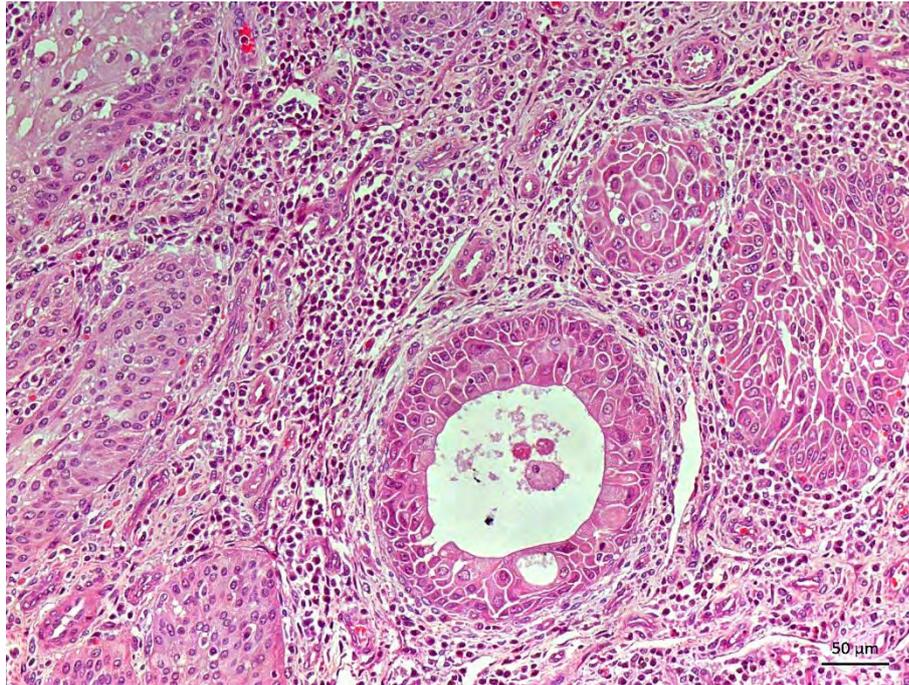


Fig. 22. Carcinoma Urotelial Alto Grau com diferenciação escamosa (divergente): em meio ao carcinoma urotelial convencional há ninhos sólidos e uma estrutura microcística composta por células neoplásicas poliédricas, hipereosinófilicas e com pontes intercelulares perceptíveis. HE, obj.40x.

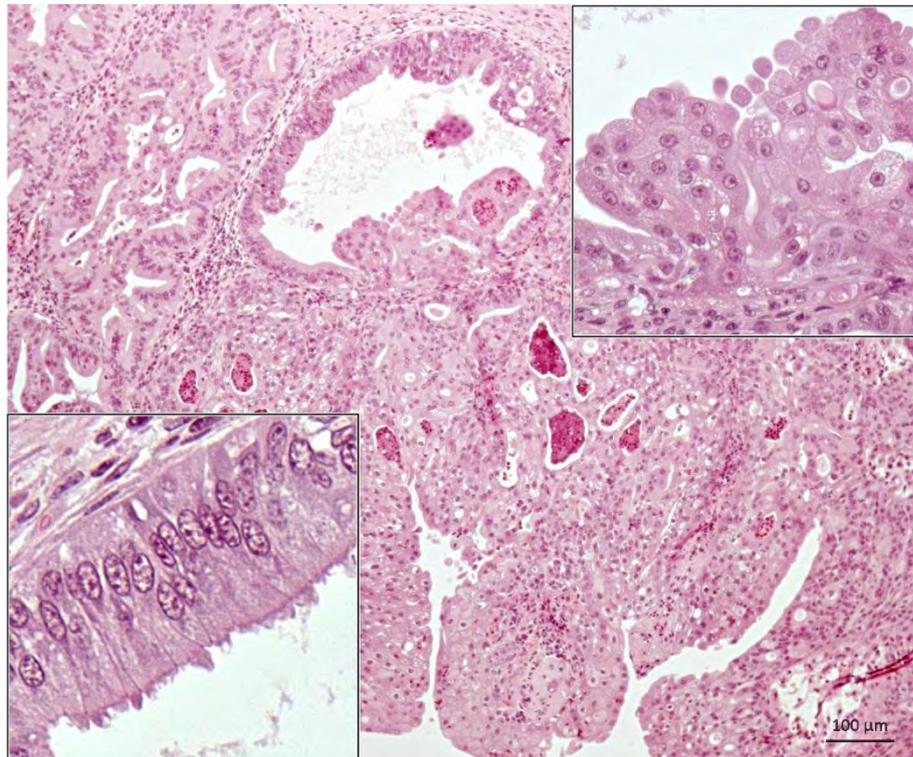


Fig. 23. Carcinoma Urotelial Baixo Grau com diferenciação glandular (divergente): além do urotélio, notam-se múltiplas áreas de diferenciação glandular com células cilíndricas a revestir lúmens, invadir e comprimir a própria. Em destaque superior, a membrana apical de algumas células neoplásicas aparentemente se desprende em material globular eosinofílico para o lúmen (diferenciação apócrina). Em destaque inferior, células cilíndricas demonstram linha uniforme e hipereosinofílica com projeções irregulares em sua membrana apical. HE, obj.10x.

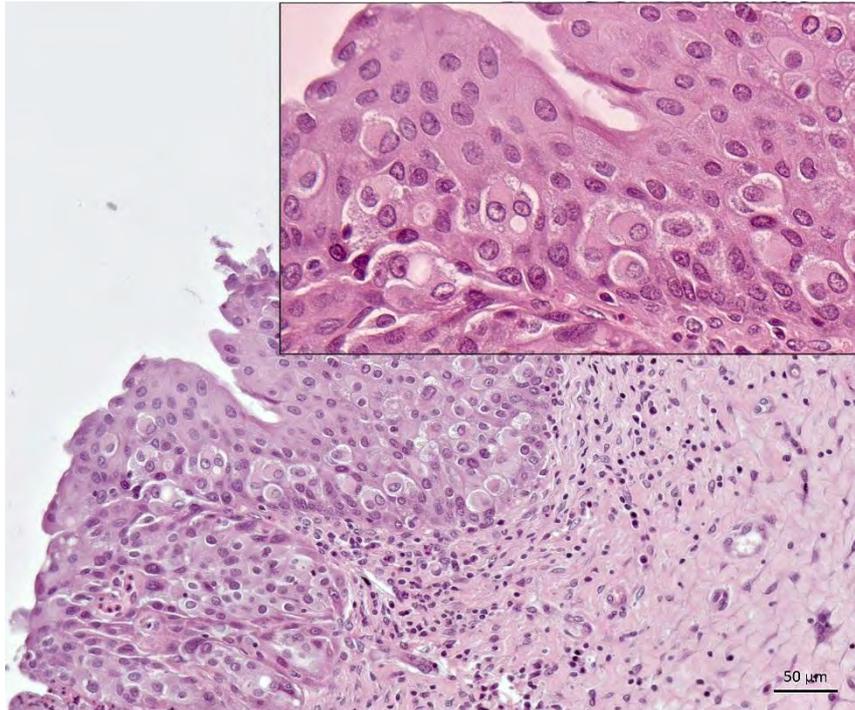


Fig. 24. Evidência morfológica da progressão de displasia para carcinoma *in situ*: urotélio displásico e na porção esquerda da imagem notam-se características citológicas de células malignas como núcleos hiper cromáticos com contorno e tamanho irregulares (anisocariose) e nucléolos evidentes, além de um foco discreto de microinvasão; em detalhe, presença de células uroteliais globosas eventualmente binucleadas, de aspecto pagetóide. HE, obj.20x.

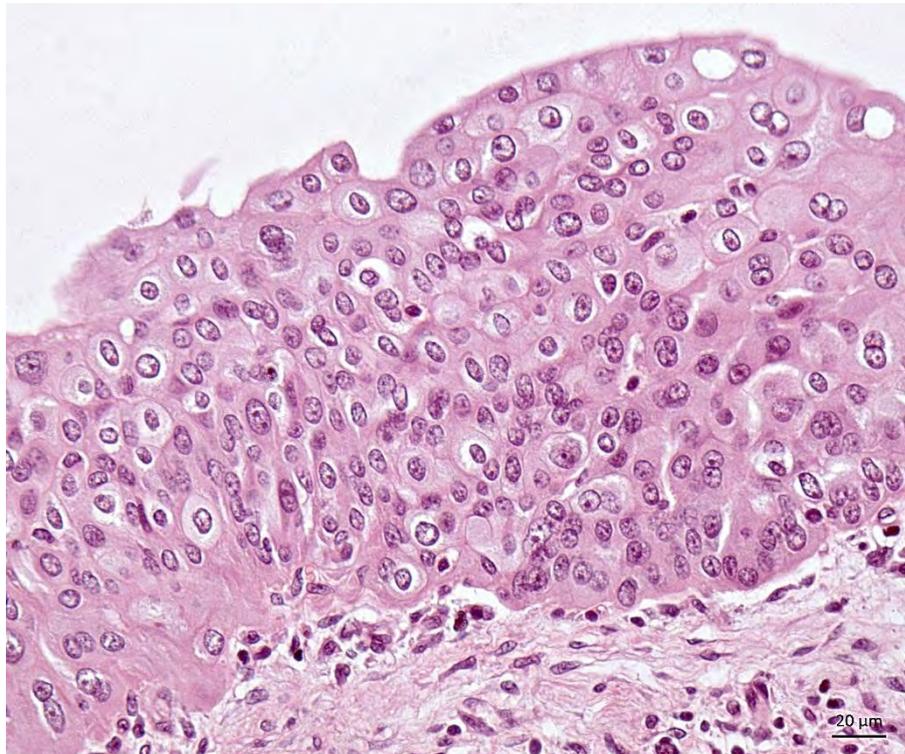


Fig. 25. Carcinoma *in situ*: acentuada perda de polaridade com núcleos de tamanhos distintos distribuídos aleatoriamente com nucléolos evidentes e binucleação; muitas células com aspecto pagetóide. HE, obj.40x.

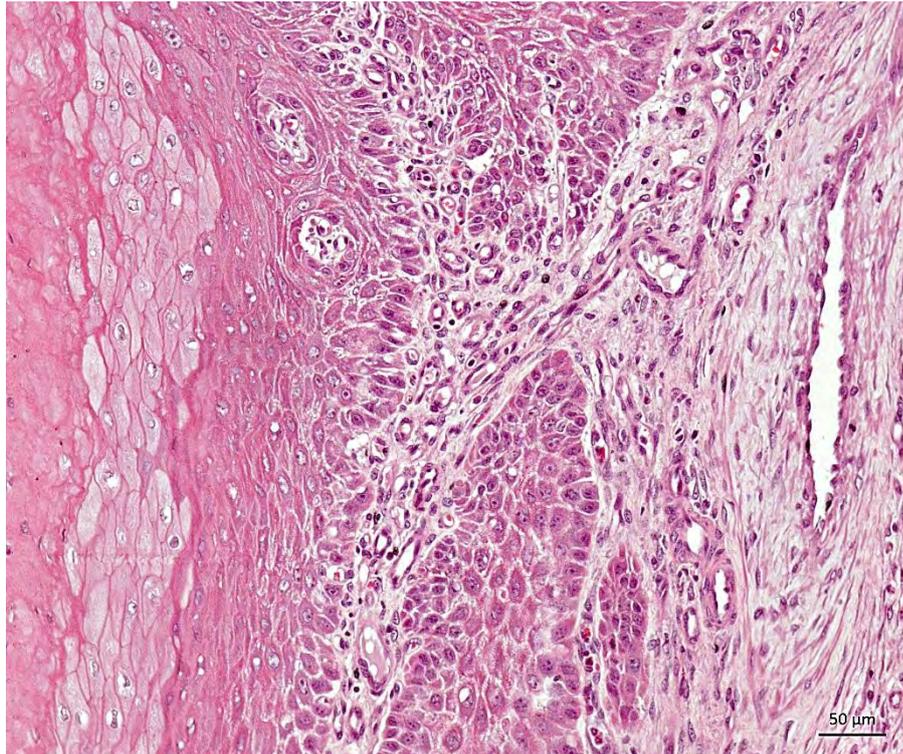


Fig. 26. Carcinoma de células escamosa: em uma região de metaplasia escamosa com acentuada queratinização, nota-se que as células que compõe tal lesão apresentam moderada atipia com vários nucléolos evidentes e projeção para a própria. Essa área corresponde à lesão macroscópica semelhante a Leucoplaquia. HE, obj.20x.

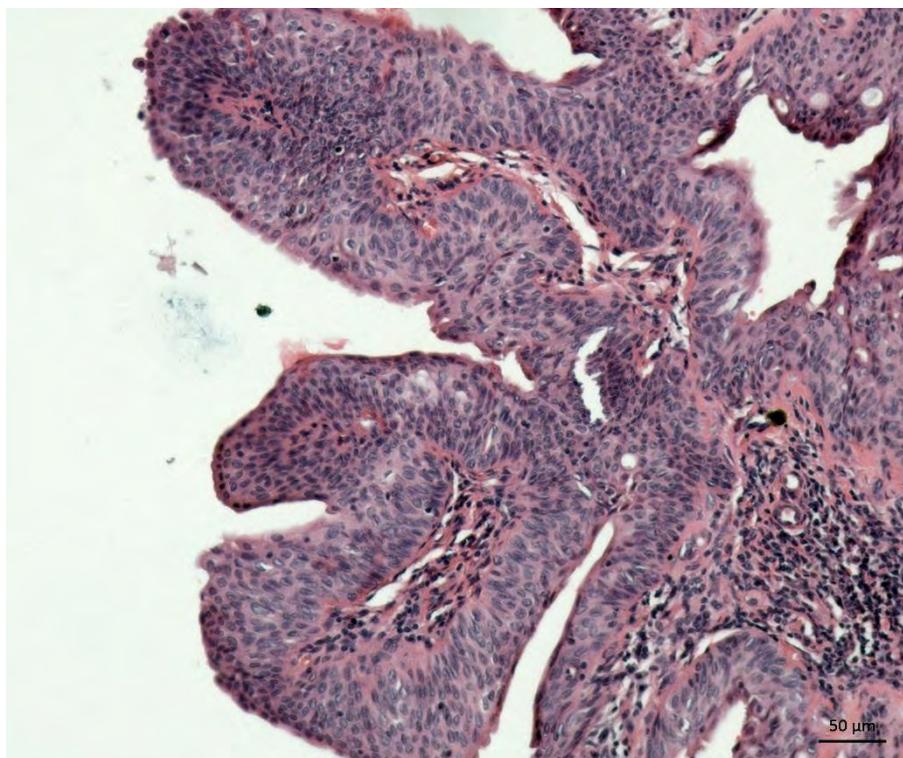


Fig. 27. Papiloma Urotelial: crescimento exófitico papilar revestido por urotélio com morfologia e arquitetura normais, o estroma subjacente apresenta infiltrado inflamatório linfocítico. HE, obj.20x.

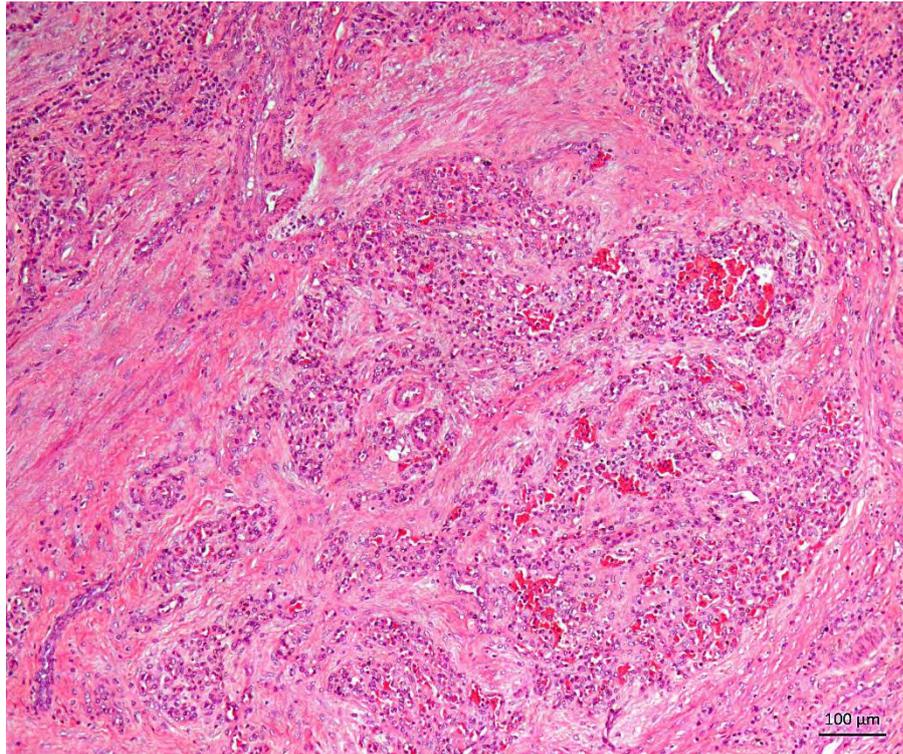


Fig. 28. Hemangioma capilar: proliferação neoplásica multilobular, moderadamente celular, predominantemente composta por células com mínima atipia que revestem pequenos lúmens semelhantes a capilares. HE, obj.10x.

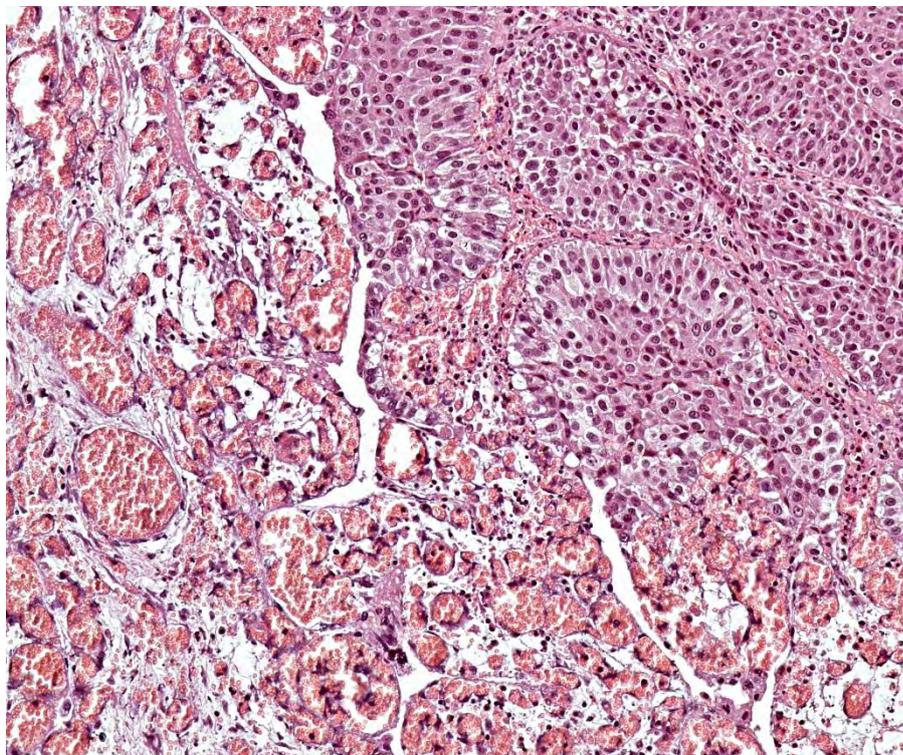


Fig. 29. Convergência (colisão) de hemangioma cavernoso com carcinoma urotelial de alto grau: grandes espaços vasculares revestidos por células endoteliais sem atipia e preenchidos por hemácias que se encontram com o urotélio neoplásico.

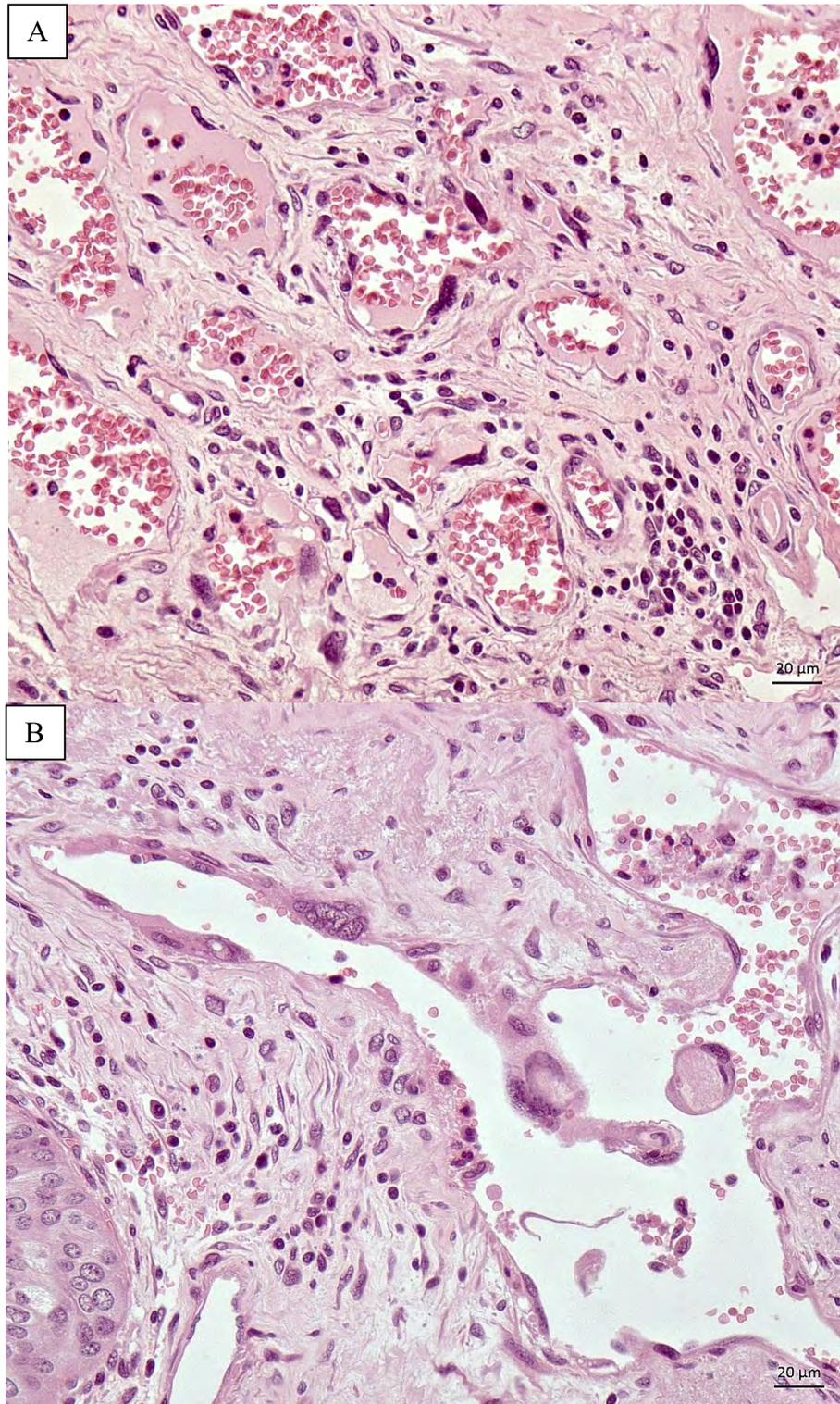


Fig. 30. (A e B) Hemangiossarcoma incipiente: vasos estruturalmente bem formados que se assemelham a vênulas em estroma edematoso, revestidos frequentemente por células endoteliais com elevada atipia nuclear (núcleos grandes e convolutos e multinucleação). HE, obj.40x.

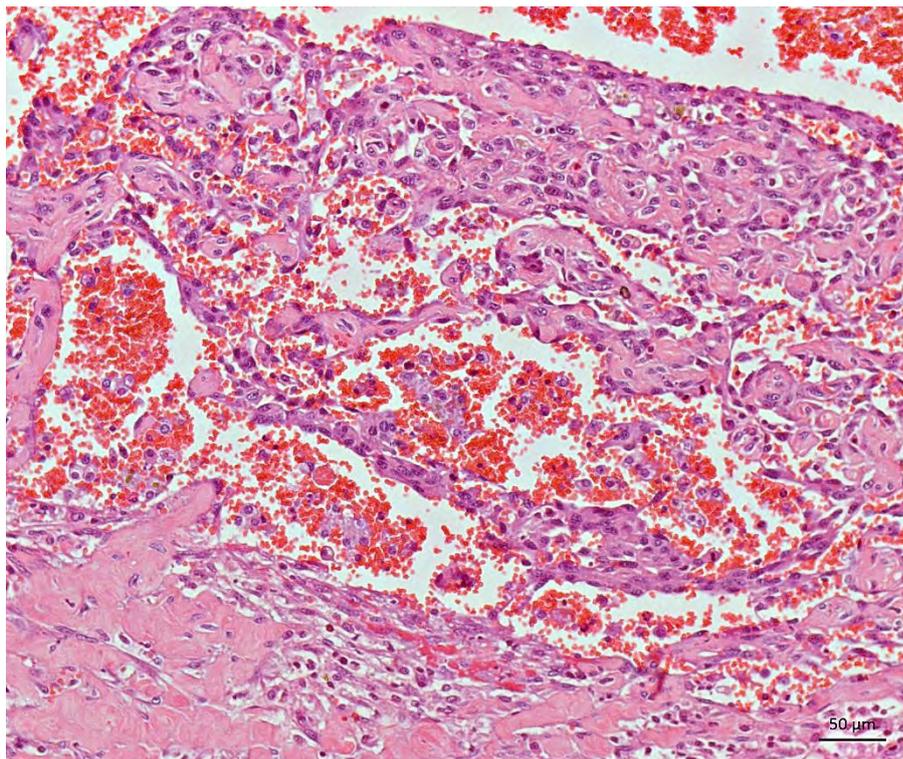


Fig. 31. Hemangiossarcoma relativamente bem diferenciado: proliferação neoplásica formada por grandes vasos anastomosados e irregulares, preenchidos por sangue e revestidos por células com moderada atipia. HE, obj.20x.

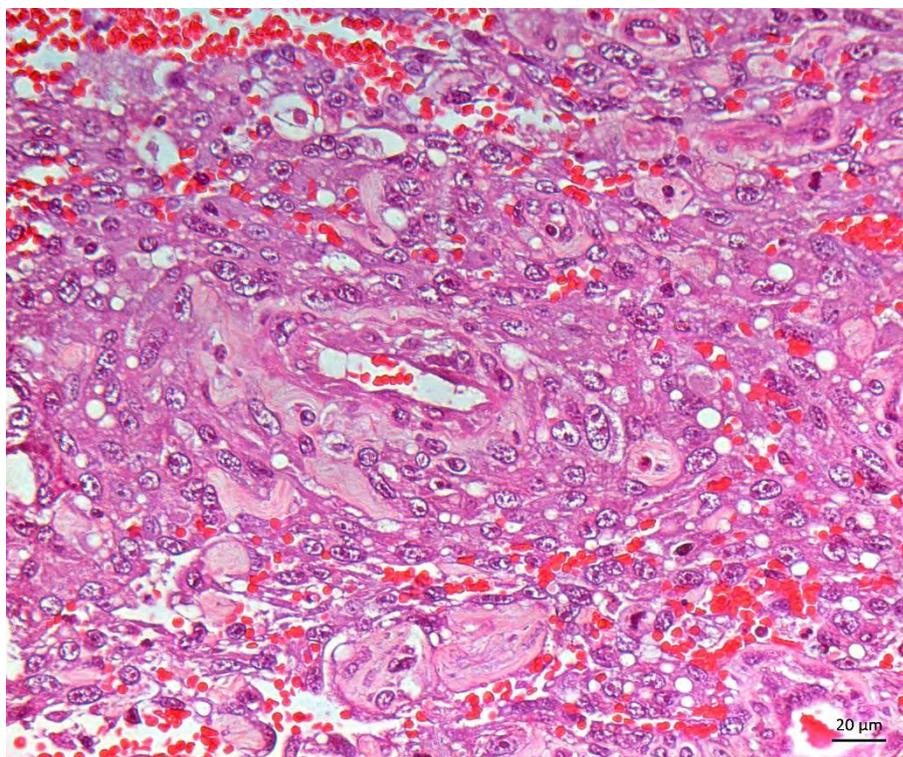


Fig. 32. Hemangiossarcoma epitelióide pouco diferenciado: a proliferação neoplásica predominantemente sólida, com lúmens vasculares pequenos; citoplasma abundante e eosinofílico e moderado pleomorfismo nuclear. HE, obj.40x.

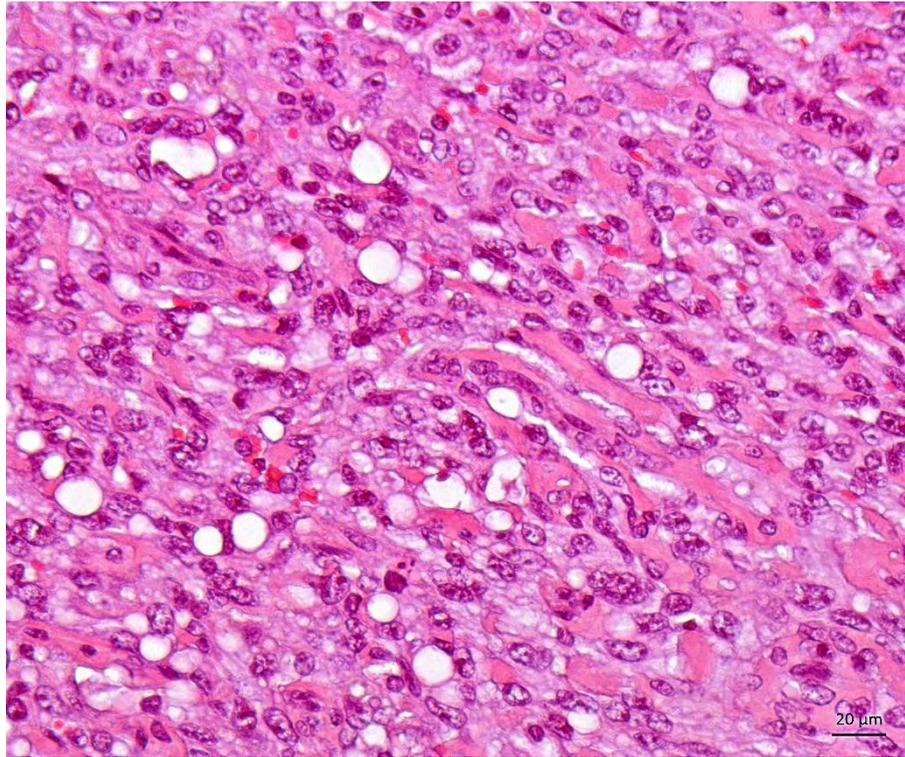


Fig. 33. Hemangiossarcoma sólido/ pouco diferenciado: proliferação neoplásica sólida com formação de lúmens geralmente delimitados por uma ou duas células de limites indistintos e com citoplasma pálido e levemente vacuolizado e moderado pleomorfismo nuclear. HE, obj.40x.

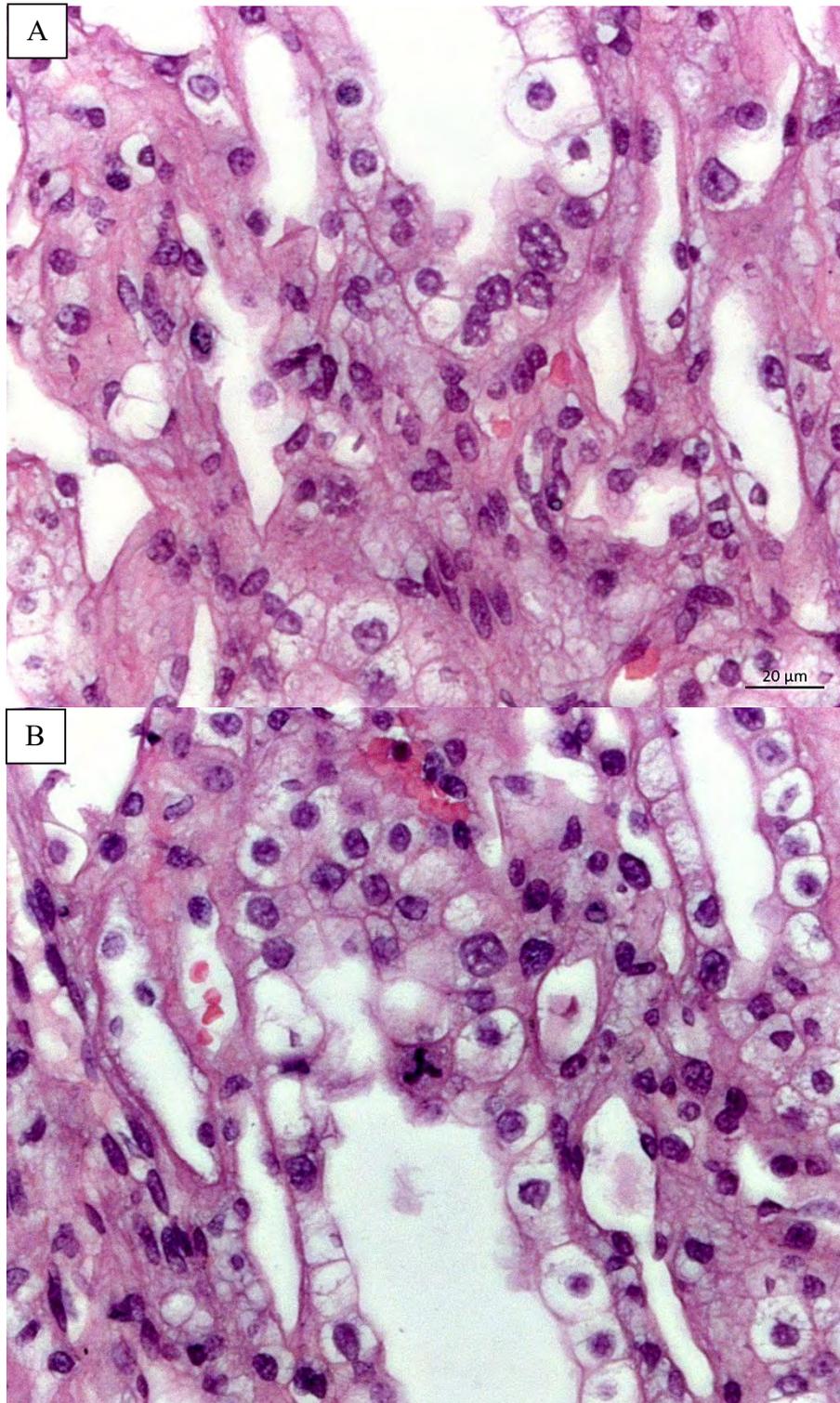


Fig. 34. (A e B) Degeneração e atipia do epitélio de ductos coletores. Os ductos coletores apresentam células epiteliais tumefeitas, em parte com moderada anisocariose e mitose tripolar (atípica). HE, obj.40x.

DISCUSSÃO

O diagnóstico de Hematúria Enzoótica (HE) associada à ingestão de *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum* baseou-se no quadro clínico-patológico característico, reforçado pelo levantamento epidemiológico, que definem uma condição única, sem paralelo possível para búfalos, no caso. De fato, a HE só ocorre em áreas onde há samambaias tóxicas, embora ainda haja grupos de pesquisa que advogam a eventual participação de papilomavírus bovino (BPV) na gênese das lesões de bexiga que causam hematúria (Olson et al. 1959, Brobst & Olson 1965, Campo et al. 1992, Borzacchiello et al. 2003, Wosiacki et al. 2006, Borzacchiello et al. 2007, Balcos et al. 2008, Roperto et al. 2008a, 2008b, Pathania et al. 2011, Resendes et al. 2011, Dias et al. 2012). Além dos estudos realizados em bovinos, alguns trabalhos citam a teoria do papel do vírus na carcinogênese urotelial de búfalos (Somvanshi 2011, Somvanshi et al. 2012, Maiolino et al. 2013, Roperto et al. 2013).

De qualquer forma, o mais importante a considerar-se no estabelecimento do diagnóstico e do diagnóstico diferencial é que não há nenhuma enfermidade análoga, que curse com neoplasias de bexiga e hematúria, de forma enzoótica, como é o caso de HE, em búfalos e em bovinos.

Na verdade, tanto a epidemiologia como os resultados de experimentos com ingestão de plantas do gênero *Pteridium* indicam que essas plantas são a causa primária, ou, pelo menos, a causa principal da HE. Em 1965, na Alemanha, Rosenberger reproduziu clinicamente a HEB pela administração diária de aproximadamente 2kg de feno de *P. aquilinum*, por dia, para uma vaca, no prazo de aproximadamente 8-9 meses. À mesma época, Stamatovic et al. (1965) também induziram a formação de neoplasias em bovinos, pela administração oral de *P. aquilinum*. Esse tempo de ingestão prolongado coincide com o tempo necessário para que bovinos introduzidos em pastagens invadidas por samambaia comecem a “urinar sangue”.

Epidemiologicamente, há outras evidências robustas da estreita associação entre a ingestão de *Pteridium* spp. e HE. Por exemplo, a hematúria causada por lesões neoplásicas ou hiperplásicas na bexiga, só ocorre quando os animais pastam em áreas onde há samambaia nos campos. Por outro lado, a pretensa necessidade de haver ou de ter ocorrido infecção prévia pelo BPV para que os bovinos venham a desenvolver as características lesões de bexiga tropeçam no fato de que há grande número de bovinos afetados pela HE que, porém são negativos para BPV, bem como na persistente falha em induzir neoplasias/processos hiperplásicos na bexiga de bovinos, desde que Olson et al. (1959) e mais tarde Döbereiner et al. (1966) tentaram, sem sucesso, induzir essas lesões por meio de inoculações com esse vírus. É também extremamente sólido o argumento de que algumas plantas do gênero *Pteridium* podem induzir, por si só, a formação de neoplasias, quando se tomam por base os numerosos experimentos realizados com a administração/ingestão de plantas desse gênero às mais diversas espécies animais, como porquinhos da Índia (Evans 1968), codornas (Maeda 1975), ratos (Price & Pamukcu 1968) e camundongos (Hirono et al. 1970). Todos esses estudos experimentais indicam que não há necessidade de haver infecção por BPV para que ocorra HE em búfalos ou bovinos.

Contudo, sabendo-se que essa hipótese ainda é considerada nos dias de hoje, amostras de bexiga das 3 búfalas foram enviadas a um laboratório para que fosse tentada a detecção desse vírus, por meio de PCR (Polymerase Chain Reaction). O resultado foi negativo, no entanto a possibilidade de falso negativo não pode ser descartada, mesmo porque o material examinado foi fixado em formalina, que diminui a possibilidade de detecção do BPV em tecidos. O ideal é que haja condições para testar-se a eventual presença do vírus por meio de hibridização "in situ" (ISH) ou análise metagenômica, o que aqui não foi possível.

De qualquer sorte, tudo indica que uma eventual presença do BPV na bexiga de búfalos e bovinos com HE não teria significação na patogênese da doença, a considerarem-se as evidências reveladas pelos experimentos e pela epidemiologia, bem como pelos achados clínico-patológicos aqui apresentados.

No Brasil, *P. esculentum* subsp. *arachnoideum* tem ampla distribuição e grassa principalmente nas regiões montanhosas, frias e de alta pluviosidade, com solos ácidos e bem drenados (Tokarnia et al. 2012), tais características edáficas estão presentes na região estudada. Em outro estudo também em São José do Barreiro, SP, observou-se que 75% das vacas em uma propriedade estavam afetadas pela enfermidade (França et al. 2002).

Os búfalos acometidos pela HE neste estudo tinham idade entre 6 e 8 anos, o que está de acordo com a faixa etária de maior ocorrência de tumores de bexiga em bovinos e bubalinos afetados pela HE (Pamukcu 1957, Yücel Tenekeci et al. 2017). Apesar dos três animais acometidos neste estudo serem fêmeas, essa enfermidade ocorreria igualmente em machos e fêmeas (Pamukcu 1963).

Em relação aos bovinos clinicamente afetados por HE, verificam-se fraqueza, emagrecimento progressivo e isolamento do rebanho (Souto et al. 2006, Rai et al. 2017), enquanto que nenhuma das búfalas no presente estudo, encontrava-se abaixo de 2,5 (magro) e ainda, a Búfala 3 estava dentro do que seria considerado o ECC ideal para melhor desempenho reprodutivo e produtivo de búfalos (Anitha et al. 2011).

Apesar disso, em todas as búfalas foi observada hematúria, sinal clínico característico da HE (Dickinson 1940, Pamukcu et al. 1976).

A urinálise da Búfala 1 revelou macrohematúria e proteinúria, assim como verificado em bovinos com HE (Pamukcu et al. 1967, Falbo et al. 2005, Sánchez-Villalobos et al. 2004, 2006). O pH da urina estava alcalino (9,0), se considerarmos o fisiológico para a espécie que seria entre 7,43 e 7,62 segundo Mohapatra et al. (2017).

As lesões macroscópicas das bexigas observadas no presente estudo se assemelham ao que já foi descrito em bovinos e bubalinos. Adicionalmente, a Búfala 3 apresentava pielonefrite com dilatação de bacinete, lesão interpretada como secundária.

Histologicamente, há quase uma perfeita identidade entre os processos neoplásicos observados em bovinos com aqueles descritos na bexiga de humanos (Peixoto et al. 2003); o mesmo ocorreu com os búfalos do presente estudo. Segundo Maiolino et al. (2013), os critérios morfológicos sugeridos para a classificação de tumores uroteliais em bovinos (Roperto et al. 2010) podem ser usados também em búfalos. Em relação aos processos não neoplásicos, também foi possível encontrar semelhanças entre aspecto de alterações histológicas do trato urinário de pessoas expostas à radioterapia (Suresh et al. 1993, Oliveira et al. 2011), com o encontrado em bovinos e bubalinos com HE.

As lesões não neoplásicas observadas no presente trabalho, como moderado grau de displasia, processos hiperplásicos em forma de ninhos de Brunner, metaplasia escamosa, diferenciação mixoide do estroma, cistite cística, glandular, folicular e polipóide, fibrose, infiltrado linfoplasmocitário difuso a múltiplos e proeminentes focos linfocíticos ao redor de vasos sanguíneos ou de proliferações neoplásicas são similares aquelas descritas em vários outros estudos de bovinos e bubalinos com HE (Aydin & Özcül 1995, França 2002, Peixoto et al. 2003, Carvalho et al. 2006, Oliveira 2009, Oliveira et al. 2011, Somvanshi et al. 2012, Yücel Tenekeci et al. 2017).

Em relação à graduação das displasias em humanos, desde 2004, a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda não graduá-las, devido à falta de critérios para distinguir e diferenciar a displasia de leve para moderada e de alto grau para o carcinoma *in situ* (Hodges et al. 2010, Akhtar et al. 2019). Entretanto, nesse trabalho, seguiram-se os padrões utilizados para bovinos com Hematúria Enzóótica (França 2002, Peixoto et al. 2003).

Pequenas variações entre as diversas classificações, por vezes refletem-se apenas como uma questão de preferência por um ou outro termo (França 2002). Todos os sistemas de classificação são dificultados por vários graus de subjetividade que afeta a reprodutibilidade interobservador (Cheng et al. 2012).

De acordo com a classificação mais atual, os carcinomas uroteliais, antes chamados carcinomas de células transitórias, foram graduados em quatro níveis (grau 1 a 4) e incorpora pontos fortes de ambos os sistemas de classificação de 1973 e 2004. O uso de dados numéricos (notas 1 a 4) e esquemas categóricos (baixo grau versus alto grau) em uma única classificação, permite uma melhor estratificação para fins de pesquisa e facilita a tomada de decisão clínica. Neste sistema, o termo "neoplasia urotelial papilar de baixo potencial maligno (PUNLMP)" foi eliminado e sugeriu-se o uso de quatro níveis de graduação para os tumores uroteliais ao invés de três (Cheng et al. 2012, Cheng & Lopez-Beltran 2016).

Foram considerados carcinomas uroteliais com diferenciação divergente aqueles que apresentaram áreas de epitélio escamoso ou glandular a partir do carcinoma urotelial convencional. A variante divergente escamosa foi a mais comum, sendo observada em duas búfalas em vários focos, com infiltração até a muscular externa em uma delas. Por outro lado, a diferenciação divergente glandular foi vista em um animal, apenas em um foco e invadia a lâmina própria. Em humanos, também se observa maior ocorrência da variante escamosa (21%) do que a glandular (6%) (Cheng & Lopez-Beltran 2016).

Outra variante histológica encontrada foi o carcinoma urotelial com crescimento invertido (carcinoma urotelial invertido) que mostra crescimento endofítico com anastomoses espessas e irregulares, cordões e trabéculas de células uroteliais com perda de polaridade. Essa variante tem pleomorfismo nuclear significativo, mitoses numerosas e anormalidades arquitetônicas consistentes com carcinoma urotelial de alto grau, mas a morfologia desta lesão pode ser confundida com o papiloma invertido benigno (Cheng & Lopez-Beltran 2016). Além disso, o diagnóstico diferencial torna-se mais difícil porque o carcinoma urotelial invertido também exibe crescimento endofítico na lâmina própria (Guo et al. 2016, Cheng & Lopez-Beltran 2016).

A variante microcística do carcinoma urotelial consiste na presença de microcistos intracelulares e intercelulares englobados por células uroteliais ou escamosas malignas e sem glândulas verdadeiras. O lúmen geralmente está vazio ou pode conter detritos eosinofílicos granulares, mucina ou células necróticas. Os cistos podem ser de tamanho variável, circulares ou ovais, até 2 mm e revestidos por urotélio; são infiltrativos e mimetizam cistite cística e glandular; espaços de ramificação alongados e irregulares são geralmente vistos. Essa variante foi adicionada à classificação da OMS em 2004 e considerada equivalente

ao carcinoma de células transicionais pseudoglandular (gland like lumen) por autores da AFIP (Murphy et al. 2004, Venyo 2013).

O arranjo trabecular, não enquadrado na OMS, foi considerado como uma das variantes histológicas do carcinoma urotelial. Segundo França (2002), trata-se de uma tumoração constituída por células uroteliais, pobremente diferenciadas, arredondadas ou poligonais, com núcleos circulares ou bizarros, vesiculares com nucléolos evidentes e citoplasma anofílico ou eosinofílico, distribuídas em trabéculas ou cordões formados por 1-2 ou mais camadas celulares.

Por fim, a destacar-se o achado de muitas células de *aspecto pagetóide* na mucosa da bexiga de uma búfala. Alteração com essa denominação, já foi descrita na bexiga de bovinos com HE, embora a morfologia demonstrada pelas fotomicrografias também possa ser denominada de carcinoma *in situ*, alto grau, uma condição não elimina outra. De qualquer forma, há que ser feita a coloração pelo PAS (Ácido Periódico de Schiff), a fim de verificar se essas células são realmente positivas para essa coloração, como o são as células na Doença de Paget mamilar em mulheres, embora "óide" signifique semelhante, uma condição não elimina a outra.

A maior parte das propriedades visitadas era constituída de pequenos e médios produtores de leite e todas elas eram muito invadidas por *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum*, cuja produção destina-se a fabricação de queijo artesanal, sem passar por qualquer tipo de industrialização. Existem poucos estudos que demonstram o eventual papel da samambaia como um agente cancerígeno humano, seja pelo consumo direto da planta (IARC 1986, Recouso et al. 2003, McGlone et al. 2005, Kang et al. 2012, Kang et al. 2014, Maroyi 2014), seja através da carne (Fletcher et al. 2011), ou produtos lácteos oriundos de animais que se alimentam de *Pteridium* spp. (Alonso-Amelot et al. 1998, Wilson et al. 1998, Shahin et al. 1999, Alonso-Amelot & Avendaño 2002). Nenhum estudo, até o momento, mediu diretamente a exposição humana ao ptaquilosídeo (O'Connor et al. 2019). Apesar da HEB ser uma doença conhecida pelos produtores, poucos acreditam que o consumo de *P. esculentum* subsp. *arachnoideum* seja a causa da enfermidade; a maioria acredita que seja *Brachiaria* sp. a causa da hematúria.

Outro ponto importante observado durante as visitas, foi o desenvolvimento da bubalinocultura na região de ocorrência desse surto, baseado na premissa que esses animais seriam mais resistentes que os bovinos à HE. Realmente há evidências que os bubalinos apresentem maior resistência ao efeito tóxico de algumas plantas, como por exemplo *Palicourea juruana* (Oliveira et al. 2004, Bastianetto & Barbosa 2009). Existem relatos de neoplasias de bexiga associadas a ingestão de *Pteridium* spp. em búfalos na Turquia, em Formosa, na Indonésia e na Índia (Pamukcu 1955, 1957, 1974, Aydin & Özcul 1995, Ozkul & Aydin 1996, Somvanshi et al. 2012, Maiolino et al. 2013, Yücel Tenekeci et al. 2017). Apesar de não existirem estudos comparativos entre bovinos e bubalinos com HE, Pamukcu (1957) cita que a incidência da doença no búfalo não foi tão alta quanto em bovinos.

Do ponto de vista do extensionista, ainda faz-se necessário um trabalho de campo, com o objetivo de informar e conscientizar os produtores a respeito da doença não só em bubalinos, como também em bovinos, formas de controle e profilaxia da intoxicação por *Pteridium* spp., bem como uma orientação técnica sobre os riscos do consumo do leite e derivados desses animais, sem passar por nenhum processamento. No meio acadêmico também há necessidade de realizarem-se pesquisas mais detalhadas sobre a epidemiologia e clínica dessa enfermidade em búfalos.

CONCLUSÕES

A Hematúria Enzoótica (HE) associada ao consumo de *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum* também ocorre em búfalos no Brasil. As lesões neoplásicas e não neoplásicas aqui encontradas se assemelham às descritas em bovinos com essa enfermidade.

Agradecimentos.- Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES). Código Financeiro 001.

Declaração de conflito de interesse.- Os autores declaram não haver conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

- Abdel-Raouf M. & El-Naggar M.A. 1968. The biometry of the gravid uterus in Egyptian buffalo cows. *Zbl. Ver. Med. Reihe A* 16(9), 838-854.
- Akhtar M., Al-Bozom I.A., Ben Gashir M., Taha N.M., Rashid S. & Al-Nabet A.D. 2019. Urothelial Carcinoma In Situ (CIS): New Insights. *Adv. Anat. Pathol.* 26(5): 313-319.
- Alonso-Amelot M.E. & Avendaño M. 2002. Human Carcinogenesis and Bracken Fern: A Review of the Evidence. *Curr. Med. Chem.* 9(6):675-686.
- Alonso-Amelot M.E., Castillo U., Smith B.L. & Lauren D.R. 1998. Excretion, through milk, of ptaquiloside in bracken-fed cows. A quantitative assessment. *Lait.* 78(4):413-423.
- Anitha, A., Rao, K. S., Suresh, J., Moorthy, P. S., & Reddy, Y. K. 2011. A body condition score (BCS) system in Murrah buffaloes. *Buffalo Bull.* 30(1): 79-96.
- Aydin Y. & Özkul I.A. 1995. Nonnoeoplastic findings of the urinary bladder in cattle and water buffalo in the black sea region of turkey. *Ankara Univ. Vet. Fak. Derg.* 42: 189-192.
- Balcos L.G.F., Borzacchiello G., Russo V., Popescu O., Roperto S. & Roperto F. 2008. Association of bovine papillomavirus type-2 and urinary bladder tumours in cattle from Romania. *Res. Vet. Sci.* 85(1): 145-148.
- Bastianetto E. & Barbosa J.D. 2009. Diferenças fisiológicas entre bubalinos e bovinos: Interferência na produção. Proceedings of VIII Congresso Brasileiro de Buiatria, Belo Horizonte, MG, p.1-13. (Resumo)
- Borzacchiello G., Ambrosio V., Roperto S., Poggiali F., Tsirimonakis E., Venuti A., Campo M.S. & Roperto F. 2003. Bovine papillomavirus type 4 in oesophageal papillomas of cattle from the south of Italy. *J. Comp. Pathol.* 128(2-3): 203-206.
- Borzacchiello G., Russo V., Spoleto C., Roperto S., Balcos L., Rizzo C., Venuti A. & Roperto, F. 2007. Bovine papillomavirus type-2 DNA and expression of E5 and E7 oncoproteins in vascular tumours of the urinary bladder in cattle. *Cancer Lett.* 250(1): 82-91.
- Brobst D.F. & Olson C. 1965. Histopathology of urinary bladder tumors induced by bovine cutaneous papilloma agent. *Cancer Res.* 25:12-19.
- Campo M.S., Jarrett W.F.H., Barron R., Neil B.W.O. & Smith K.T. 1992. Association of bovine papillomavirus type 2 and bracken fern with bladder cancer in cattle. *Cancer Res.* 52:6898-6904.
- Carvalho T., Pinto C. & Peleteiro M.C. 2006. Urinary bladder lesions in Bovine Enzootic Haematuria. *J. Comp. Path.* 134(4):336-346.
- Cheng L. & Lopez-Beltran A. 2016. Urinary Bladder, p.1681-1735. In: Cheng L. & Bostwick D.G. (Eds), *Essentials of Anatomic Pathology*. 4^a ed. Springer International Publishing, Switzerland.
- Cheng L., MacLennan G.T. & Lopez-Beltran A. 2012. Histologic grading of urothelial carcinoma: a reappraisal. *Hum. Pathol.* 43:2097-108.
- Cota J.B., Peleteiro M.C., Petti L., Tavares L. & Duarte, A. 2015. Detection and quantification of bovine papillomavirus type 2 in urinary bladders and lymph nodes in cases of Bovine Enzootic Hematuria from the endemic region of Azores. *Vet. Microbiol.* 178(1-2): 138-143.
- Dias J.D.C., Ignacchiti M.D.C., Giuriato P.G.G., Nunes L. C. & Pereira Jr O.S. 2012. Detecção do papilomavírus bovino tipo 2 em bexigas de bovinos com hematuria enzoótica pela técnica de reação em cadeia de polimerase no sul do Espírito Santo, Brasil. *Rev. Bras. Med. Vet.* 34(2):146-151.
- Dickinson C.G. 1940. Haematuria in Cattle. *Aust. Vet. J.* 16: 224-226.
- Döbereiner J., Olson C., Brown R.R., Price J. M. & Yess, N. 1966. Metabolites in urine of cattle with experimental bladder lesions and fed bracken fern. *Pesq. Agrop. Bras.* 1: 189-199.
- Döbereiner J., Tokarnia C.H. & Canella, C.F.C. 1967. Ocorrência da hematuria enzoótica e de carcinomas epidermóides no trato digestivo superior em bovinos no brasil. *Pesq. Agropec. Bras.* 2:489-504.

- Evans I.A. 1968. The radiomimetic nature of bracken toxin. *Cancer Res.* 28:2252-2261.
- Falbo M.K., Reis A.C.F., Balarin M.R.S., Bracarense A.P.F.R.L., Araújo Jr J.P., Okano W. & Sandini I.E. 2005. Alterações hematológicas, bioquímicas, urinárias e histopatológicas na intoxicação natural em bovinos pela samambaia *Pteridium aquilinum* (L.) Kühn. *Semina: Ciênc. Agrár.* 26(4): 547-558.
- Feitosa F.L.F. 2014. *Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico.* 3ª ed. Roca, São Paulo, p.77-102.
- Fletcher M.T., Reichmann K.G., Brock I.J., McKenzie R. A. & Blaney, B. J. 2011. Residue Potential of Norsesquiterpene Glycosides in Tissues of Cattle Fed Austral Bracken (*Pteridium esculentum*). *J. Agric. Food Chem.* 59(15): 8518–8523.
- Forslund O., Antonsson A., Nordin P., Stenquist B.O. & Hansson B.G. 1999. A broad range of human papillomavirus types detected with a general PCR method suitable for analysis of cutaneous tumours and normal skin. *J. Gen. Virol.* 80(9): 2437-2443.
- França T.N. 2002. Aspectos histopatológicos da Hematúria Enzoótica Bovina no Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 85p.
- França T.N., Tokarnia C.H. & Peixoto P.V. 2002. Enfermidades determinadas pelo princípio radiomimético de *Pteridium aquilinum* (Polypodiaceae). *Pesq. Vet. Bras.* 22(3):85-96.
- Galvão & Marques 2017, dados não publicados, (Centro Universitário Barra Mansa, campus Barra Mansa).
- Galvão & Peixoto 2012, dados não publicados, (Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, campus Seropédica).
- Gava & Ogliari 2020, dados não publicados, (Universidade do Estado de Santa Catarina, campus Lages).
- Guo A., Liu A. & Teng X. 2016. The pathology of urinary bladder lesions with an inverted growth pattern. *Chin. J. Cancer Res.* 28(1): 107-121.
- Hirono I. 1990. Carcinogenicity of bracken fern and its causal principle. *AIAS Occas. Pub.* 40:233-240.
- Hirono I., Aiso S., Yamaji T., Mori H., Yamada K., Niwa H., Ojika M., Wakamatsu K., Kigoshi H., Niiyama K. & Uosaki Y. 1984. Carcinogenicity in rats of ptaquiloside isolated from bracken. *Gann* 75(10): 833-836.
- Hirono I., Shibuya C., Fushimi K. & Haga M. 1970. Studies on carcinogenic properties of bracken, *Pteridium aquilinum*. *J. Nat. Cancer Inst.* 45:179-188.
- Hodges K.B., Lopez-Beltran A., Davidson D.D., Montironi R. & Cheng L. 2010. Urothelial dysplasia and other flat lesions of the urinary bladder: clinicopathologic and molecular features. *Hum. Pathol.* 41(2): 155-162.
- Humphrey P.A., Moch H., Cubilla A.L., Ulbright T.M. & Reuter V.E. 2016. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs—Part B: Prostate and Bladder Tumours. *Eur. Urol.* 70(1): 106-119.
- IARC 1986. Bracken fern (*Pteridium aquilinum*) and some of its constituents, p. 47-67. In: *Int. Agcy Res. Canc., Lyon (ed.) Monographs on Evaluation of the Carcinogenic, Risk of Chemicals to Humans*, vol. 40.
- Jarrett W.F.H., McNeil P.E., Grimshaw W.T.R., Selman I.E. & McIntyre W.I.M. 1978. High incidence area of cattle cancer with possible interaction between an environmental carcinogen and a papilloma virus. *Nature* 274(20): 215-217.
- Kang Y., Łuczaj Ł., Kang J. & Zhang S. 2012. Wild food plants and wild edible fungi in two valleys of the Qinling Mountains (Shaanxi, central China). *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 9(26): 1-19.
- Kang Y., Łuczaj Ł., Kang J., Wang F., Hou J. & Guo Q. 2014. Wild food plants used by the Tibetans of Gongba Valley (Zhouqu county, Gansu, China). *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 10(20): 1-13.
- Lopez-Beltran A., Bassi P., Pavone-Macaluso M. & Montironi R. 2004. Handling and pathology reporting of specimens with carcinoma of the urinary bladder, ureter, and renal pelvis. *Eur Urol.* 45: 257-66.

- Maeda T. 1975. Fundamental studies on the etiology of Haematuria vesicalis bovis. I. The induction of carcinomas and haemorrhages of the urinary bladder in Guinea pigs by feeding bracken fern (*Pteridium aquilinum*), Bull. Fac. Agric., Tottori Univ. 27:79-80.
- Maiolino P., Özkul A., Sepici-Dincel A., Roperto F., Yücel G., Russo V., Urraro C., Lucà R., Riccardi M.G., Martano M., Borzacchiello G., Esposito I. & Roperto, S. 2013. Bovine papillomavirus type 2 infection and microscopic patterns of urothelial tumors of the urinary bladder in water buffaloes. Biomed Res. Int. 13: 1-6.
- Maroyi, A. 2014. Not just minor wild edible forest products: consumption of pteridophytes in sub-Saharan Africa. J. Ethnobiol. Ethnomed. 10(78): 2-9.
- McGlone, M. S., Wilmshurst, J. M., & Leach, H. M. 2005. An ecological and historical review of bracken (*Pteridium esculentum*) in New Zealand, and its cultural significance. N. Z. J. Ecol. 29(2): 165-184.
- Meuten D.J. 2017. Tumors in Domestic Animals. 5th ed. Wiley-Blackwell, Nova Jersey, p.632-688.
- Mohapatra S.P. Ingole S.D., Bharucha S.V., Nagvekar A.S., Kekan P.M. & Kharde S.D. 2017. Changes in urinary dipstick parameters in cyclic and early pregnant Murrah buffaloes. J. Pharm. Innov. 6(7): 08-10.
- Murphy W.M, Beckwith J.B. & Farrow G.M. 1994. Atlas of Tumor Pathology: Tumors of the Kidney, Bladder, and Related Urinary Structures. Third Series. Fasc. 11. AFIP Washington, DC. 326p.
- Murphy W.M., Grignon D.J. & Perlan E.J. 2004. Tumors of the kidney, bladder, and related urinary structures (AFIP atlas of tumor pathology). Armed Forces Institute of Pathology, Philadelphia. 394p.
- O'Connor P.J., Alonso-Amelot M.E., Roberts S. A. & Povey A.C. 2019. The role of bracken fern illudanes in bracken fern-induced toxicities. Mutat. Res. 782:108276.
- Oliveira C.M.C., Barbosa J.D., Macedo R.S.C., Brito M.F., Peixoto P.V. & Tokarnia C.H. 2004. Estudo comparativo da toxidez de *Palicourea juruana* (Rubiaceae) para búfalos e bovinos. Pesq. Vet. Bras. 24(1):27-30.
- Oliveira L.G., França T.N., Oliveira L.I., Peixoto P.V. & Brito M.F. 2011. Similarities between Non-Neoplastic Urinary Bladder Lesions in Bovine Enzootic Hematuria and those Induced by Radiotherapy in Humans, p. 388-395. In: Riet-Correa F., Pfister J., Schild A.L. & Wierenga T. (Eds), Poisoning by Plants, Mycotoxins and Related Toxins. 1^a ed. CABI International, Oxfordshire.
- Oliveira L.G.P. 2009. Novos aspectos patológicos e patogenéticos da hematúria enzoótica bovina. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 133p.
- Olson C., Pamukcu A.M., Brobst D.F., Satter E.J. & Price J.M. 1959. A urinary bladder tumor unduced by a bovine cutaneous papillomatosis. Am. J. Path. 35:672.
- Ordóñez N.G. & Rosai J. 1996. Urinary tract: Kidney, renal pelvis, and ureter, bladder and male urethra, p.1059-220. In: Rosai J. (ed.) Ackerman's Surgical Pathology. Vol. 1. 8th ed. Mosby, St. Louis.
- Özkul I.A. & Aydin, Y. 1996. Tumours of the urinary bladder in cattle and water buffalo in the Black Sea region of Turkey. Br. Vet. J. 152(4): 473-475.
- Pamukcu A.M. 1955. Investigations on pathology of enzootic bovine haematuria in Turkey. Zentbl. Vet. Med. 2:409-429.
- Pamukcu A.M., Göksoy S.K. & Price J.M. 1967. Urinary bladder neoplasms induced by feeding bracken fern (*Pteris aquilina*) to cows. Cancer Res. 27(1):917-924.
- Pamukcu A.M., Price J.M. & Bryan G.T. 1976. Naturally occurring and bracken-fern-induced bovine urinary bladder tumors: Clinical and morphological characteristics. Vet. Pathol. 13(2): 110-122.
- Pamukcu, A. M. 1957. Tumors of the urinary bladder in cattle and water buffalo affected with enzootic bovine hematuria. Zentralbl. Veterinaermed. 4(2): 185-197.
- Pamukcu, A. M. 1963. Epidemiologic studies on urinary bladder tumors in Turkish cattle. Ann. N. Y. Acad. Sci. 108, 938-947.

- Pamukcu, A. M. 1974. Tumours of the urinary bladder. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 50(1-2): 43-52.
- Pathania S., Kumar P., Devi L.G., Kumar D., Dhama K. & Somvanshi R. 2011. Preliminary assessment of binary ethylenimine inactivated and saponized cutaneous warts (BPV-2) therapeutic vaccine for enzootic bovine haematuria in hill cows. *Vaccine* 29(43): 7296-7302.
- Peixoto P.V., França, T.N., Barros, C.S.L. & Tokarnia, C.H. 2003. Histopathological aspects of Bovine Enzootic Hematuria in Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 23(2):65-81.
- Price J.M. & Pamukcu A.M. 1968. The induction of neoplasms of the urinary bladder of the cow and the small intestine of the rat by feeding bracken fern (*Pteris aquilina*). *Cancer Res.* 28:2247-2251.
- Rai S.K., Sharma R., Kumari A., Rasmussen L.H., Patil R.D. & Bhar R. 2017. Survey of ferns and clinico-pathological studies on the field cases of enzootic bovine haematuria in Himachal Pradesh, a north-western Himalayan state of India. *Toxicon* 138: 31-36.
- Recouso R.C., Stocco dos Santos R.C., Freitas R., Santos R.C., Freitas A.C., Brunner O., Beçak W. & Lindsey, C. J. 2003. Clastogenic effect of bracken fern (*Pteridium aquilinum v. arachnoideum*) diet in peripheral lymphocytes of human consumers: preliminary data. *Vet. Comp. Oncol.* 1(1), 22-29.
- Resendes A.R., Roperto S., Trapani F., Urraro C., Rodrigues A., Roperto F. & Borzacchiello G. 2011. Association of bovine papillomavirus type 2 (BPV-2) and urinary bladder tumours in cattle from the Azores archipelago. *Res. Vet. Sci.* 90(3): 526-529.
- Roperto S., Ambrosio V., Borzacchiello G., Galati P., Paciello O., Russo V. & Roperto F. 2005. Bovine papillomavirus type-2 (BPV-2) infection and expression of uroplakin IIIb, a novel urothelial cell marker, in urinary bladder tumors of cows. *Vet. Pathol.* 42(6): 812-818.
- Roperto S., Borzacchiello G., Brun R., Leonardi L., Maiolino P., Martano M., Paciello O., Papparella S., Restucci B., Russo V., Salvatore, G. Urraro C. & Roperto F. 2010. A review of bovine urothelial tumours and tumour-like lesions of the urinary bladder. *J. Comp. Pathol.* 142(2-3): 95-108.
- Roperto S., Borzacchiello G., Brun R., Perillo A., Russo V., Urraro C. & Roperto F. 2008b. Multiple glomus tumors of the urinary bladder in a cow associated with bovine papillomavirus type 2 (BPV-2) infection. *Vet. Pathol.* 45(1): 39-42.
- Roperto S., Borzacchiello G., Casellato R., Galati P., Russo V., Sonnino S. & Roperto, F. 2007. Sialic acid and GM3 ganglioside expression in papillomavirus-associated urinary bladder tumours of cattle with chronic enzootic haematuria. *J. Comp. Pathol.* 137(2-3): 87-93.
- Roperto S., Brun R., Paolini F., Urraro C., Russo V., Borzacchiello G., Pagnini U., Raso C., Rizzo C., Roperto F. & Venuti A. 2008a. Detection of bovine papillomavirus type 2 in the peripheral blood of cattle with urinary bladder tumours: possible biological role. *J. Gen. Virol.* 89(12): 3027-3033.
- Roperto S., Russo V., Ozkul A., Sepici-Dincel A., Maiolino P., Borzacchiello G., Marcus I., Esposito I., Riccardi M.G. & Roperto, F. 2013. Bovine papillomavirus type 2 infects the urinary bladder of water buffalo (*Bubalus bubalis*) and plays a crucial role in bubaline urothelial carcinogenesis. *J. Gen. Virol.* 94(2): 403-408.
- Rosenberger G. 1965. Längere Aufnahme von Adlerfarn (*Pteris aquilina*) – die Ursache der chronischen vesikalen Haematurie des Rindes. *Wiener Tierärztl. Mschr.* 52(5):415-421.
- Sánchez-Villalobos A., Alvarado C.M.A., García-Bracho D., Pino-Ramírez D., Villarroel-Neri R. & Boscán-Ocando J. 2004. Observaciones clínico patológicas en vacas con hematuria enzoótica bovina. *Revta. Cient.* 14(4):317-323.
- Sánchez-Villalobos A., Alvarado C.M.A., Villarroel-Neri R., Pino-Ramírez D., García-Bracho D. & Sánchez-Cómbita G. 2006. Validez, seguridad y cociente de verosimilitud de los métodos tiras reactivas para orina y examen microscópico del sedimento urinario en el diagnóstico de hematuria enzoótica bovina. *Revta. Cient.* 16(6):604-612.
- Shahin, M., Smith, B. L., & Prakash, A. S. 1999. Bracken carcinogens in the human diet. *Mutat. Res.* 443(1-2), 69-79.

- Somvanshi R. 2011. Papillomatosis in buffaloes: A less-known disease. *Transbound. Emerg. Dis.* 58(4): 327-332.
- Somvanshi R., Pathania S., Nagarajan N., Pangty K. & Kumar, P. 2012. Pathological study of non-neoplastic urinary bladder lesions in cattle and buffaloes: a preliminary report. *Trop. Anim. Health. Prod.* 44(4): 855-861.
- Souto M.A.M., Kommers G.D., Barros C.S.L., Rech R.R. & Piazer J.V.M. 2006. Neoplasmas da bexiga associados à hematúria enzoótica bovina. *Cienc. Rural.* 36(5):1647-1650.
- Stamatovic S., Bratanovic U. & Sofrenovic D. 1965. Das klinische Bild der durch Verfütterung von Adlerfarn (*Pteris aquilina*) experimentell hervorgerufenen Haematuria vesicalis der Rinder. *Wiener Tierärztl. Mschr.* 52(6):589-596.
- Suresh U.R., Smith V.J., Lupton E.W., Haboubi N.Y. 1993. Radiation disease of the urinary tract: Histological features of 18 cases. *Clin. Pathol.* 46: 228-231.
- Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção. 2ª ed. Helianthus, Rio de Janeiro, p.349-364.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Canella C.F.C. 1967. Ocorrência da intoxicação aguda pela "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. II Estudos complementares. *Pesq. Agropec. Bras.* 4:209-224.
- Thomson J.A. 2012. Taxonomic status of diploid southern hemisphere brackens (*Pteridium*: Dennstaedtiaceae). *Telopea* 14:43-48.
- Venyo A.K.G. 2013. Microcystic Variant of Urothelial Carcinoma. *Advances in Urology.* 1-7.
- Wilson D., Donaldson L.J. & Sepai O. 1998. Should we be frightened of bracken? A review of the evidence. *J. Epidemiol. Community Health* 52(12), 812-817.
- Wosiacki S.R., Barreiro M.A.B., Alfieri A.F. & Alfieri A.A. 2005. Semi-nested PCR for detection and typing of bovine Papillomavirus type 2 in urinary bladder and whole blood from cattle with enzootic haematuria. *J. Virol. Methods* 126(1-2): 215-219.
- Wosiacki S.R., Claus M.P., Alfieri A.F. & Alfieri A. A. 2006. Bovine papillomavirus type 2 detection in the urinary bladder of cattle with chronic enzootic haematuria. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 101(6): 635-638.
- Wosiacki S.R., Reis A.C.F., Alfieri A.F. & Alfieri A.A. 2002. Papilomavírus bovino tipo 2 na etiologia da hematúria enzoótica bovina. *Semin. Cienc. Agrar.* 23(1): 121-130.
- Yücel Tenekeci G., Öztekin M., Bozkurt M.F., Sepici Dinçel A. & Özkul, İ.A. 2017. Pathomorphological and Immunohistochemical Studies of Tumours in the Urinary Bladders of Water Buffalo in Marmara, the Central and Western Black Sea Region of Turkey. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 23(2): 269-273.

4 CAPÍTULO II

Neoplasias do Trato Alimentar Superior em Búfalos associadas à ingestão de *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum* (Dennstaedtiaceae) no Brasil

(Neoplasms of the Upper Digestive Tract of Buffalo poisoning by Pteridium esculentum subsp. arachnoideum (Dennstaedtiaceae) in Brazil)

Artigo que será submetido ao periódico: Pesquisa Veterinária Brasileira

Qualis 2013-2016: Estrato A2 – Medicina Veterinária

Qualis 2019: Estrato A4 – Área Única

Neoplasias do Trato Alimentar Superior em Búfalos associadas à ingestão de *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum* (Dennstaedtiaceae) no Brasil¹

Juliana F. Rocha^{2*}, Bartolomeu B. N. Santos³, Alexandre Galvão⁴, Tayson O. Marques⁵,
Juliana C. Olegário⁶, Luís Armando C. Brust⁷, Ticiane N. França³, Paulo V. Peixoto³

ABSTRACT.- Rocha J.F., Santos B.B.N., Galvão A., Marques T.O., Olegário J.C., Brust L.A.C., França T.N. & Peixoto P.V. 2020. **Neoplasms of the Upper Digestive Tract of Buffalo poisoning by *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum* (Dennstaedtiaceae) in Brazil.** *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Projeto Sanidade Animal Embrapa/UFRRJ, Seropédica, RJ 23890-000, Brazil. E-mail: jurocha.me@gmail.com

The occurrence of upper digestive tract (UDT) neoplasms is described in buffalo that consumed *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum* in São José do Barreiro, SP. The diagnosis was based on epidemiological and pathological findings, very characteristic and similar to those observed in cattle with this disease. This chronic form of intoxication is determined by the ingestion of plants of the genus *Pteridium*, popularly known as "bracken fern" or "field bracken fern". Bovine that feed on this plant may present simultaneous lesions in the urinary bladder and in the UDT, induced by the presence of ptaquiloside, a substance contained in the plant that has a radiomimetic effect. The buffaloes in this study had concomitant Enzootic Hematuria (EH). The three animals affected, however, had good nutritional status and, except hematuria, apparently were healthy. The animals were slaughtered and the material collected at slaughterhouse. Neoplastic and non-neoplastic lesions were present at the base of the tongue and in tissues of the oropharynx, larynx and esophagus and were characterized by multiple foci of exophytic proliferative lesions, pedunculated in the shape of cauliflower or cone ("cutaneous horn -like"), as well as circular plaque lesions, often ulcerated. Among benign neoplasms, papillomas and a fibroma were found. Regarding malignant ones, carcinomas with squamous differentiation and carcinoma in situ were observed. Additionally, non-neoplastic growth disorders, dyskeratosis, parakeratosis, foci of inflammatory infiltration predominantly lymphoid, degeneration in the vessel wall and vascular proliferation with fibrosis were observed. The PCR test did not detect genetic material of the BPV virus in the esophageal samples analyzed. We found no mention in the literature consulted of this condition in buffalo.

INDEX TERMS: *Pteridium*, bracken fern, buffalo, carcinoma, fibroma.

RESUMO. - [Neoplasias do Trato Alimentar Superior em Búfalos associadas à ingestão de *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum* (Dennstaedtiaceae) no Brasil] Descreve-se a ocorrência de neoplasias do Trato Alimentar Superior (TAS) em bubalinos que consumiam *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum* no Município de São José do Barreiro, SP. O diagnóstico baseou-se nos achados epidemiológicos e patológicos, muito característicos e semelhantes aos observados em bovinos com essa enfermidade. Essa forma crônica da intoxicação é determinada pela ingestão de plantas do gênero *Pteridium*, conhecidas popularmente como "samambaias" ou "samambaias do campo". Os bovinos que se alimentam dessa planta podem apresentar lesões simultâneas na bexiga urinária e no TAS, induzidas pela

¹Recebido em

Aceito para publicação em

²Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR-465, Km 7, Seropédica, RJ 23897000, Brasil. *Autor para correspondência: jurocha.me@gmail.com

³Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR-465, Km 7, Seropédica, RJ 23897000, Brasil. E-mail: bartolomeu.neves@gmail.com, ticiananfranca19@gmail.com, pfpeixoto19@gmail.com

⁴Centro Universitário Barra Mansa (UBM), Rua Ver. Pinho de Carvalho, Centro, Barra Mansa, RJ, 27330-550. E-mail: tandyvet@gmail.com

⁵Médico Veterinário Autônomo, Volta Redonda, RJ, Brasil. E-mail: taysonmarques.vet@gmail.com

⁶Laboratório de Virologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, Porto Alegre, RS, 91540-000. E-mail: juli.ole@hotmail.com

⁷Centro de Ensino Superior de Valença (CESVA/FAA), Rua Sargento Vitor Hugo, Fátima, Valença, RJ, 27600-000, Brasil. E-mail: armandobrust@gmail.com

presença de ptaquilosídeo, substância contida na planta que tem efeito radiomimético. As búfalas deste estudo apresentavam concomitantemente Hematúria Enzoótica (HE). Os 3 animais afetados, todavia, apresentavam bom estado nutricional e, à exceção da hematúria, aparentemente estavam saudáveis. Os animais foram abatidos e o material colhido no frigorífico. As lesões neoplásicas e não neoplásicas estavam presentes na base da língua e em tecidos da orofaringe, laringe e esôfago e caracterizavam-se por múltiplos focos de lesões proliferativas exofíticas, pedunculadas em forma de couve-flor ou cone ("corno cutâneo-like"), bem como lesões circulares em placa, muitas vezes ulceradas. Dentre as neoplasias benignas foram encontrados papilomas e um fibroma. Em relação às malignas observaram-se carcinomas com diferenciação escamosa e carcinoma *in situ*. Adicionalmente observaram-se distúrbios do crescimento não neoplásicos, disqueratose, paraqueratose, focos de infiltração inflamatória predominantemente linfóide, degeneração na parede de vasos e proliferação vascular com fibrose. O exame de PCR não detectou material genético do vírus BPV nas amostras de esôfago analisadas. Não encontramos menção na literatura consultada dessa condição em bubalinos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Pteridium*, samambaia, bubalino, carcinoma, fibroma.

INTRODUÇÃO

Pteridium esculentum subsp. *arachnoideum*, planta tóxica conhecida como "samambaia" ou "samambaia do campo" que tem distribuição cosmopolita e alto potencial carcinogênico para os animais, contém ptaquilosídeo, um princípio tóxico de ação radiomimética (Hirono et al. 1984, Hirono 1990, O'Connor et al. 2019). Em bovinos, há três diferentes quadros clínico-patológicos dependentes das quantidades diárias ingeridas e do tempo de ingestão da planta (Tokarnia et al. 2012). Diátese Hemorrágica - DH, ainda não identificada em búfalos, ocorre quando os bovinos ingerem quantidades maiores que 10g/Kg da planta/dia, durante algumas semanas a poucos meses (Tokarnia et al. 1969), enquanto os dois quadros clínicos crônicos que podem ocorrer isolados ou silmultâneos, a Hematúria Enzoótica - HE e os Carcinomas das Vias Digestivas Superiores - CVDS (Döbereiner et al. 1967, Tokarnia et al. 1969) desenvolvem-se em decorrência da ingestão de pequenas quantidades ao longo dos anos.

Os CVDS (Döbereiner et al. 1967) - aqui descritos como Neoplasias do Trato Alimentar Superior (NTAS), nova designação utilizada (Gava et al. 2002, Gabriel et al. 2009, Masuda et al. 2011, Souto et al. 2006, Faccin et al. 2017, 2018) para essa forma crônica da intoxicação em bovinos - caracterizam-se por processos neoplásicos induzidos pelo consumo de *Pteridium* spp. (Döbereiner et al. 1967, Tokarnia et al. 1969). Outros autores, porém, defendem a teoria da participação do papilomavírus bovino na patogênese das neoplasias causadas por plantas desse gênero (Olson et al. 1959, Jarrett et al. 1978, Dias et al. 2012).

Os CVDS, doença progressiva, irreversível apresenta sinais clínicos de acordo com a localização e desenvolvimento das lesões; observam-se estridores, dificuldade de deglutição e tosse decorrentes de lesões localizadas na base da língua ou na faringe, enquanto lesões esofágicas usualmente cursam com distúrbios como regurgitação de conteúdo ruminal pelas narinas e timpanismo crônico está mais associado a lesões na entrada do rúmen, com emagrecimento progressivo até óbito (Döbereiner et al., 1967). Descrevem-se ainda atonia ruminal, disfagia, halitose e diarreia e, menos frequentemente apetite seletivo, dispnéia e salivação (Souto et al. 2006). As neoplasias do TAS apresentam-se de tamanhos e formas variadas, desde massas exofíticas papilares, verrucosas, ou planas, firmes, brancacentas com áreas amareladas até amplas lesões ulcerativas que infiltram e destroem os tecidos adjacentes (Döbereiner et al. 1967, Tokarnia et al. 1969, Souza & Graça 1993, Faccin et al. 2018).

Histologicamente, até então, só haviam sido descritos carcinomas de células escamosas (CCEs), papilomas e proliferações epiteliais "borderline". Transformação carcinomatosa de papilomas também tem sido referida. Adicionalmente, hiperplasia escamosa, displasia leve, moderada ou grave e carcinomas *in situ*, podem estar acompanhados por infiltrado inflamatório linfoplasmocítico. Também pode haver presença de metástases em linfonodos regionais (Faccin et al. 2018).

A ocorrência de neoplasias do TAS associadas à ingestão prolongada de samambaia já foi descrita em bovinos no *Brasil* (Döbereiner et al. 1967, Tokarnia et al. 1969, Souza & Graça 1993, Gava et al. 2002, Gabriel et al. 2009, Masuda et al. 2011, Souto et al. 2006, Faccin et al. 2017, 2018), na *Escócia* (Jarrett et al. 1978, Campo et al. 1985) e na *Itália* (Borzacchiello et al. 2003), contudo, até o momento, não havia descrição em bubalinos. Apesar de existirem relatos da ocorrência de HE em bubalinos na Turquia, Formosa, Indonésia e Índia (Pamukcu 1955, 1957, 1974, Aydin & Özkul 1995, Özkul & Aydin 1996, Somvanshi et al. 2012, Maiolino et al. 2013, Yücel Tenekeci et al. 2017), nenhum desses trabalhos menciona a presença de neoplasias no TAS.

O presente trabalho tem como objetivo relatar a ocorrência de neoplasias do TAS em búfalos criados em pastagens invadidas por *P. esculentum* subsp. *arachnoideum*.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de ocorrência. A intoxicação natural por *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum* ocorreu em propriedades com criação de bubalinos para exploração leiteira no Município de São José do Barreiro, São Paulo.

Visitas à propriedade. Nas visitas feitas a nove propriedades, foi realizada investigação direcionada para caracterizar os aspectos epidemiológicos e quadros clínico-patológicos associados à ingestão de *P. esculentum* subsp. *arachnoideum* em bubalinos. Os rebanhos dessas propriedades eram pequenos, constituídos de 25 a 50 búfalos, em média. Durante as visitas, foram observados dois bubalinos (o primeiro pertencia a uma propriedade e o segundo a outra) com hematúria clinicamente detectável. Adicionalmente, cinco bubalinos com histórico de hematúria, oriundos dessa região estudada, foram identificados e enviados para o abate devido ao prognóstico desfavorável.

Avaliação dos animais vivos. Foi colhido o histórico dos animais com os alguns proprietários e com compradores/vendedores de gado. No mesmo dia foram realizadas avaliações visuais dos mesmos no curral de espera dos frigoríficos e matadouro. Avaliações realizadas: observação do comportamento (nível de consciência, postura e locomoção, pelagem, forma abdominal, características respiratórias) segundo Feitosa et al. (2014); coloração da urina e avaliação do Escore de Condição Corporal (ECC), baseado em uma escala de 1 a 5 de acordo com Anitha et al. (2011).

Colheitas de material em frigoríficos e matadouro municipal. Fragmentos do trato alimentar superior (base da língua com tecidos anexos da orofaringe, laringe, esôfago) dos três bubalinos abatidos nos frigoríficos Qualicarnes (Barra Mansa, RJ), Cleumar (Cruzeiro, SP) e Matadouro Municipal 1970 (Bananal, SP) foram colhidas para estudo macroscópico e histopatológico. Os três bubalinos foram identificados como Búfalo 1 – SAP 35208, Búfalo 2 – SAP 35240 e Búfalo 3 – SAP 35241, de acordo com a ordem de colheita. Adicionalmente, foram colhidos bexigas, ureteres e rins que foram estudados e incluídos em outro trabalho complementar a esse estudo (Rocha et al. 2020).

Histopatologia. Os fragmentos dos órgãos coletados foram fixados em formalina a 10% para exame histopatológico. O material foi processado rotineiramente, corado pela Hematoxilina-Eosina (H.E.) e as lâminas foram montadas para observação em microscópio ótico. O processamento do material foi realizado pelo Setor de Anatomia Patológica (SAP) do IV/UFRRJ.

A classificação histológica utilizada nesse trabalho foi baseada no livro "Tumors in Domestic Animals" (Meuten 2017).

PCR: uma amostra de esôfago de cada búfala inclusa em parafina, após ser fixada em formalina tamponada a 10% e processada rotineiramente pelo Setor de Anatomia Patológica (SAP) do IV/UFRRJ foi enviada ao Laboratório de Virologia do Departamento de Patologia Clínica Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande Do Sul para realização de RT-PCR (Real time polymerase chain reaction) para pesquisa de um fragmento de 480 pb do genoma de papilomavírus bovino (Forsslund et al. 1999).

RESULTADOS

Dados epidemiológicos. Durante o levantamento epidemiológico (realizado entre 2017 e 2019) foi observado que todas as propriedades visitadas tinham suas criações a pasto e algumas suplementavam os animais, na época seca, com polpa cítrica e concentrado. Essas pastagens, em sua maioria, originalmente constituídas por *Brachiaria* sp. estavam muito invadidas por *P. esculentum* subsp. *arachnoideum* (70 a 90% da área). Os pastos eram roçados durante o ano e plantava-se *Brachiaria* sp. (Fig. 1). As propriedades tinham como principal atividade a bubalinocultura leiteira e pertenciam a pequenos produtores de queijo. Dos 12 produtores de leite da região, dez substituíram os bovinos ou inseriram também os bubalinos na atividade leiteira. Todos declararam estar muito satisfeitos com a criação de bubalinos e afirmam que os búfalos são mais resistentes que os bovinos.

As enfermidades causadas pelo consumo da samambaia em bovinos, como a Hematúria Enzoótica Bovina (HEB) e as neoplasias do Trato Alimentar Superior (TAS), já são bem conhecidas pelos produtores da região, apesar de poucos acreditarem que elas estão direta e exclusivamente associadas à ingestão de samambaia. A percepção da maioria deles é de que essas doenças ocorram pelo consumo da *Brachiaria* sp., ou mesmo, pela associação das duas plantas, ou ainda por outros motivos. Em relação à HEB, os produtores ainda alegam que essa enfermidade passou a existir após a introdução da *Brachiaria* sp. em meados dos anos 70. Sobre as neoplasias do TAS de bovinos - quando citados os sinais clínicos característicos - muitos produtores confirmam a ocorrência dessa forma da doença em bovinos mais velhos, mas dizem nunca ter visto a doença acontecer nos búfalos.

Durante o período de visitas às propriedades, foi comunicado que cinco búfalas com hematúria, oriundas do município de São José do Barreiro, SP, haviam sido vendidas para compradores de gado da região e seriam abatidas. Desses animais, foi possível acompanhar o abate e colher material de três búfalas.



Fig. 1. Bubalino em pastagem de *Brachiaria* invadida por *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum*. Detalhe da foto: *P. esculentum* subsp. *arachnoideum* em meio à pastagem de *Brachiaria* (aproximado).

Achados clínico-patológicos. Durante a anamnese, realizada com compradores/vendedores de gado, foi observado que estes tinham poucas informações sobre os animais ou tinham receio de fornecê-las. Relataram que todos "urinavam sangue" (hematúria) (Fig. 2), eram fêmeas adultas de aptidão leiteira e com idade entre 6 e 8 anos. Notou-se que as três búfalas apresentavam nível de consciência (alerta), postura e locomoção normais. A pelagem dos três animais estava limpa, brilhante e sem a presença de ectoparasitas. Forma abdominal estava normal. O Escore de Condição Corporal (ECC) foi de 3,5 (Fig. 2); 2,5 e 3,0, respectivamente, para as búfalas 1, 2 e 3.

Os achados macro e microscópicos da base da língua e tecidos da orofaringe, laringe e esôfago das três búfalas estão descritos abaixo.

A) **Macroscopia:**

Base da língua (orofaringe): havia múltiplos focos (mais de 15) de lesões proliferativas exófitas, verrucosas de superfície acentuadamente irregular, esbranquiçada e bordos bem definidos. As lesões maiores, de 0,4 a 1cm, por vezes, eram pedunculadas em forma de couve-flor ou cone ("corno cutâneo-like") com áreas marrons entremeadas às áreas brancas. Presença de lesões circulares em placa (discretamente elevadas) com centro deprimido e bordos elevados, variando de 0,4 a 0,8cm, com superfície branca e áspera também foram observadas.

Fragmento de esôfago: notou-se a superfície mucosa difusamente espessada, áspera e irregular, expandida por nódulos que variavam de 0,2 a 2cm (Fig. 2 B). Observou-se três lesões de morfologias distintas: um nódulo de 2cm de diâmetro, pedunculado, ovalado, brancacento, de superfície lisa e compacto ao corte (Fig. 3); projeções da mucosa variando de 0,5 a 1cm, de superfície irregular, firme, com base larga e ápice afunilado com áreas brancacentas e amarronzadas, por vezes com aspecto de couve-flor (corno cutâneo-like) (Fig. 4); lesão ulcerada, umbilicada com centro marrom deprimido e bordos elevados, medindo 1cm (Fig. 4 B - em detalhe).

Durante a colheita das amostras, foi observado, nas três búfalas, útero gravídico com fase gestacional de aproximadamente 90 dias, de acordo com a morfometria fetal (Abdel-Raouf & El-Nagga 1968).

B) **Microscopia:** as lesões neoplásicas e não neoplásicas encontradas no TAS de bubalinos, estão apresentadas no Quadro 1.

Dentre as neoplasias epiteliais benignas, as três búfalas, apresentaram além dos papilomas clássicos (Fig. 5), papilomas com acentuada queratinização coesa, similar a "corno cutâneo" (Fig. 6). Quanto a mesenquimal, apenas na Búfala 1 notou-se presença de fibroma (Fig. 7). Em relação as epiteliais malignas, em todos os animais observou-se carcinomas infiltrativos, variando de bem (Fig. 8) a moderadamente diferenciados (Fig. 9).

Quanto aos distúrbios do crescimento não neoplásicos, houve hiperplasia difusa do epitélio de revestimento com paraqueratose (Fig. 10), disceratose (Fig. 11), hiperplasia pseudocarcinomatosa (Fig. 12) e displasia. Nódulos linfoides e infiltrado inflamatório do tipo linfoplasmocítico intersticial também foram observados. Na Búfala 1 e 3, esse infiltrado inflamatório estava ao redor de células neoplásicas. Degeneração mixoide intimomedial de artérias musculares de pequeno calibre estava presente na Búfala 1 (Fig. 13) e proliferação vascular com fibrose na Búfala 2 e 3. Outros achados como: vacuolização citoplasmática de queratinócitos basais (Fig. 14), ectasia de ductos de glândulas salivares (Fig. 15) e edema multifocal intercelular do epitélio também foram notados.

PCR: O resultado do teste para detecção de papilomavírus bovino nas amostras de pool de esôfagos das três búfalas foi negativo.

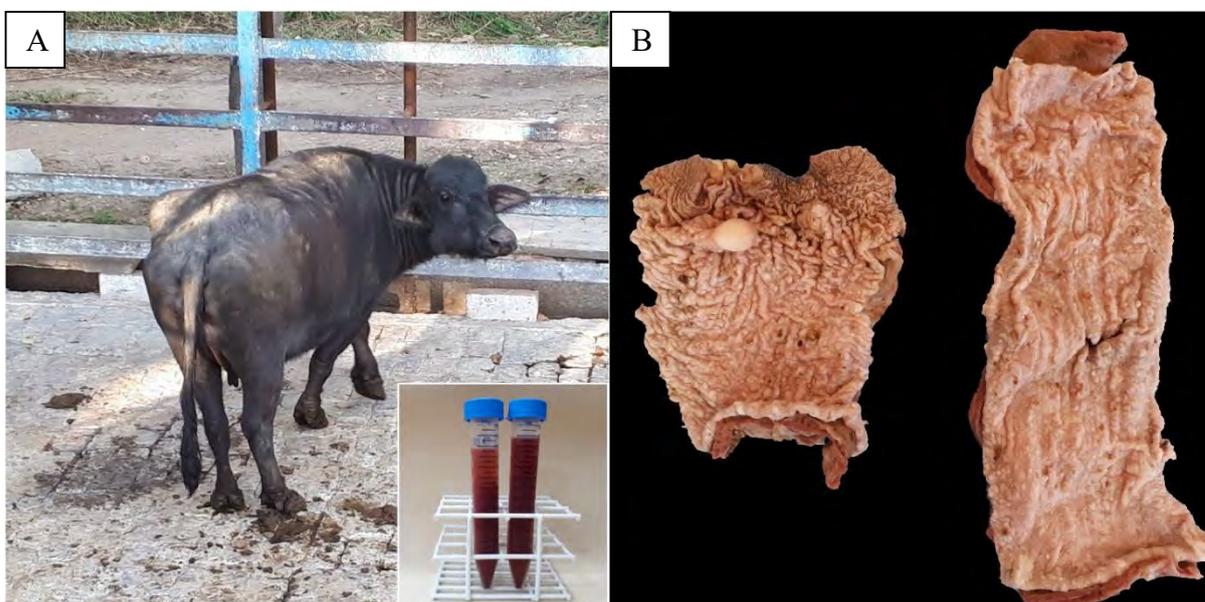


Fig. 2. (A) Búfala 1 no curral de espera do frigorífico, apresenta Escore de Condição Corporal (ECC) de 3,5 (escala de 1 a 5). Detalhe da foto: urina da Búfala 1 de coloração vermelha. **(B)** Esôfago. Mucosa difusamente espessa e irregular com proliferações exofíticas disseminadas de vários tamanhos.

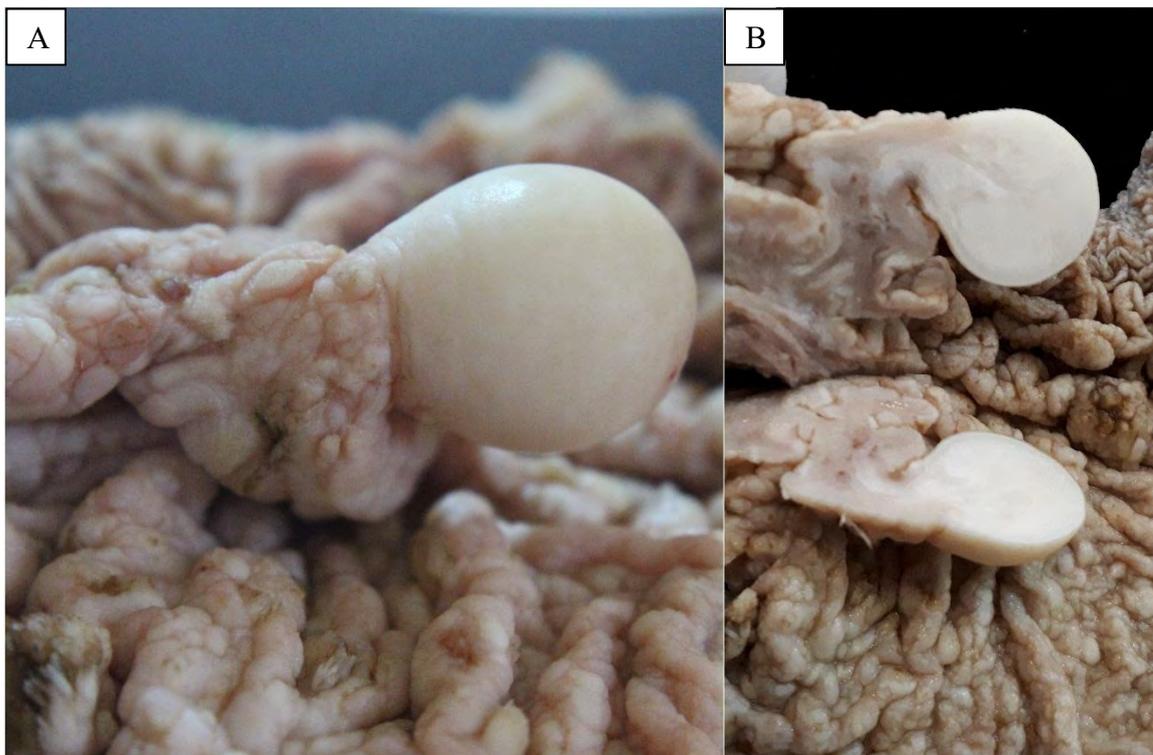


Fig. 3. (A) Mucosa esofágica - Fibroma colagenoso. Nódulo exofítico pedunculado de superfície branca e lisa. **(B)** Superfície de corte branca e compacta.

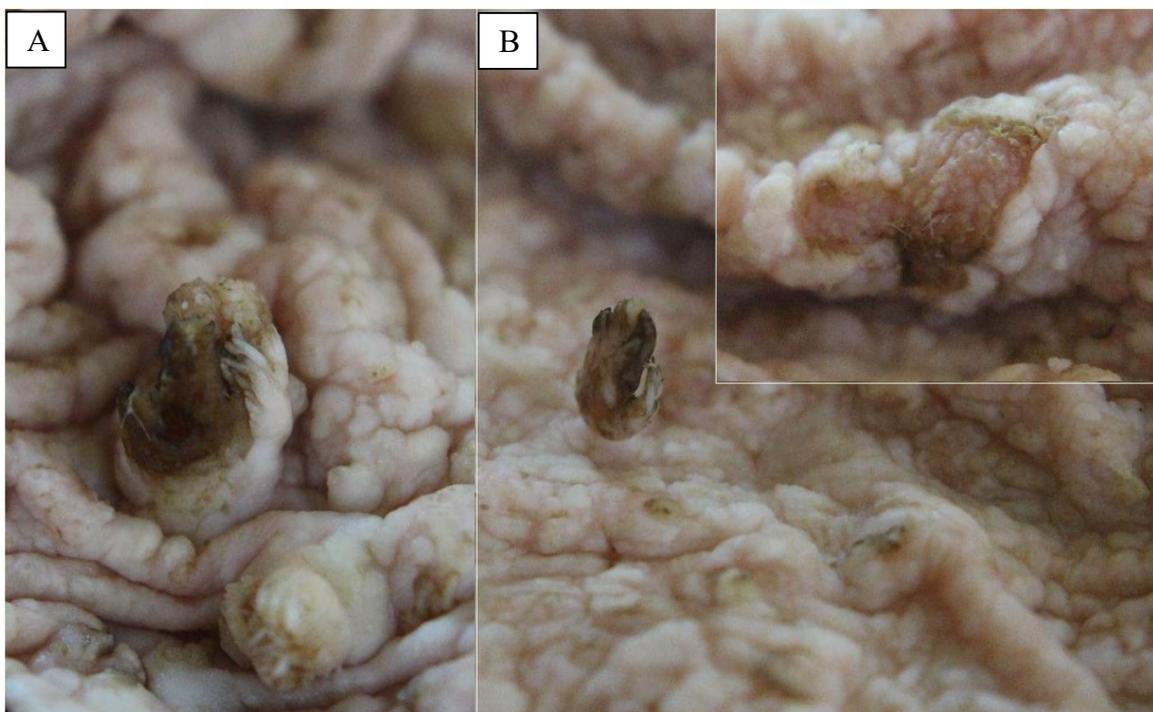


Fig. 4. (A) Mucosa esofágica. Papiloma com queratinização semelhante a corno cutâneo. Notar proliferação exofítica de base larga com ápice afunilado; a mucosa adjacente está espessa e apresenta outras lesões proliferativas menores. **(B)** Lesão exofítica pedunculada correspondente a um papiloma. Detalhe da foto: área com úlcera secundária a carcinoma de células escamosas.



Fig. 5. Esôfago. Papiloma escamoso. Proliferação exofítica pedunculada composta por epitélio escamoso bem diferenciado e hiperqueratótico, sustentado por finos segmentos fibrovasculares. HE, obj.2,5x.

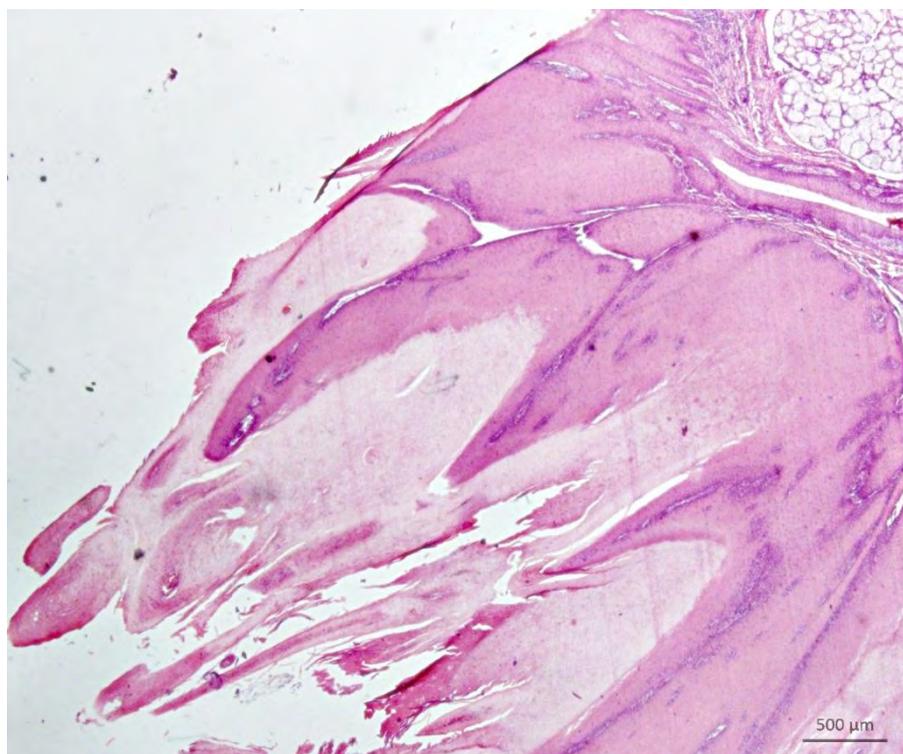


Fig. 6. Língua: papiloma com queratinização coesa semelhante a corno cutâneo. Proliferação exofítica de epitélio escamoso bem diferenciado com mínima atipia e finos septos fibrovasculares; a base da neoplasia é expansiva e comprime a lâmina própria; o ducto excretor salivar apresenta epitélio hiperplásico. HE, obj.2.5x.

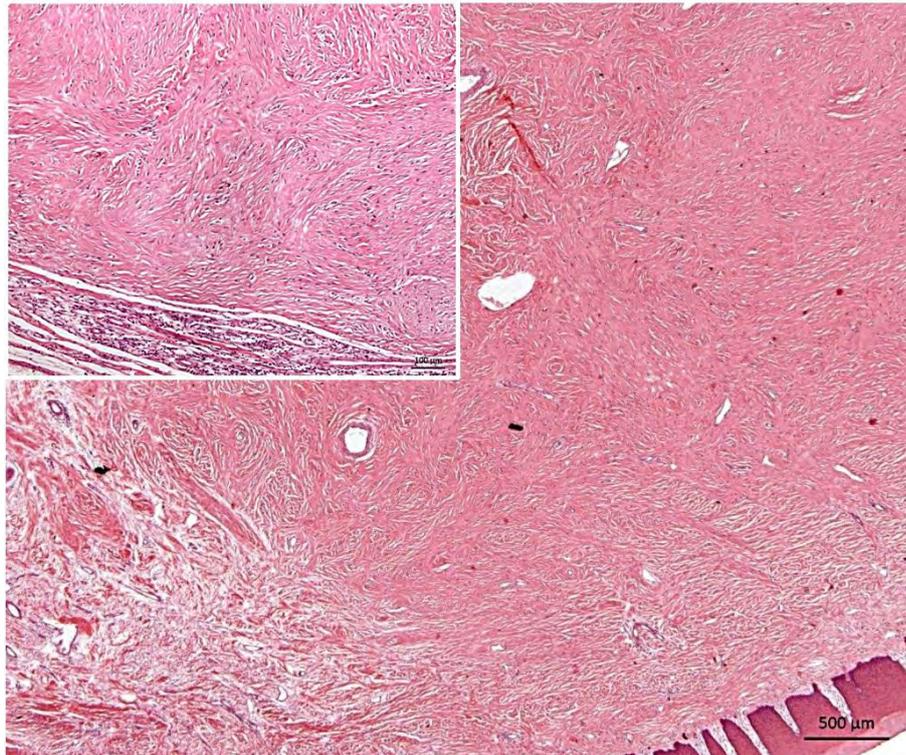


Fig. 7. Esôfago (lâmina própria). Fibroma Colagenoso. Neoplasia moderadamente celular, circunscrita, não encapsulada e expansiva composta por células de limites indistintos, com núcleo achatado e elíptico sem atipia, espaçadas por abundante estroma colagenoso com fibras em diferentes direções. HE, obj.10x. Detalhe: notar área de crescimento menos circunscrito. HE, obj.2,5x.

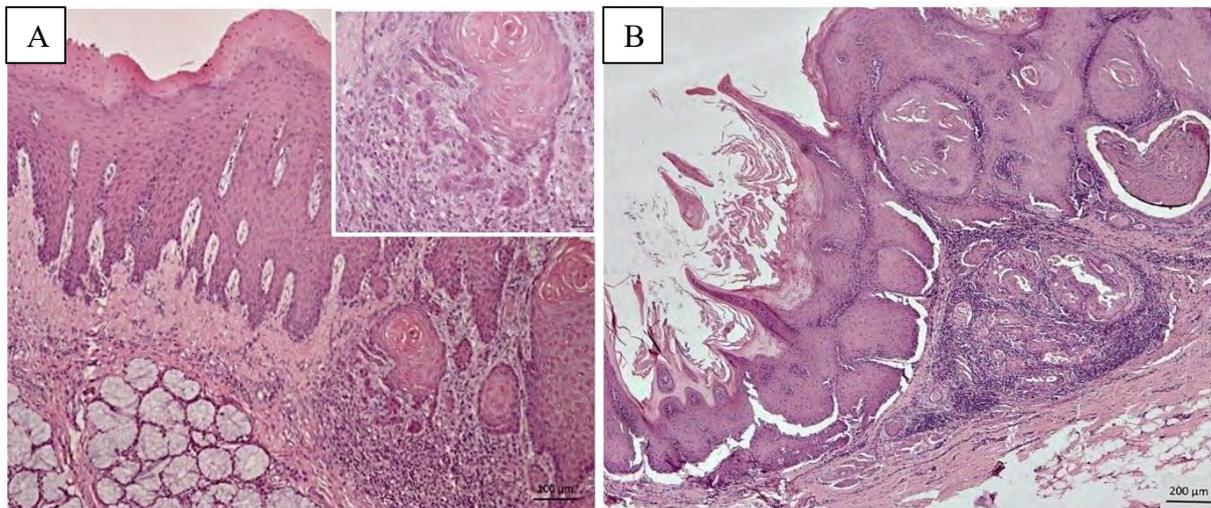


Fig. 8. Carcinoma de células escamosas bem diferenciado. (A) O epitélio escamoso bem diferenciado, hiperplásico e disceratótico emite projeções para lâmina própria/submucosa tipo hiperplasia pseudoepiteliomatosa mas que em um ponto infiltra a basal formando ninhos com pérolas de queratina e cordões neoplásicos envoltos por reação inflamatória linfoplasmocítica. **(B)** Proliferação exofítica de base larga do epitélio escamoso bem diferenciado de aparência verrucóide apresenta focos de infiltração de células escamosas menos diferenciadas arranjadas em ninhos na lâmina própria/submucosa com intenso infiltrado inflamatório linfocítico circunjacente. HE, obj.10x.

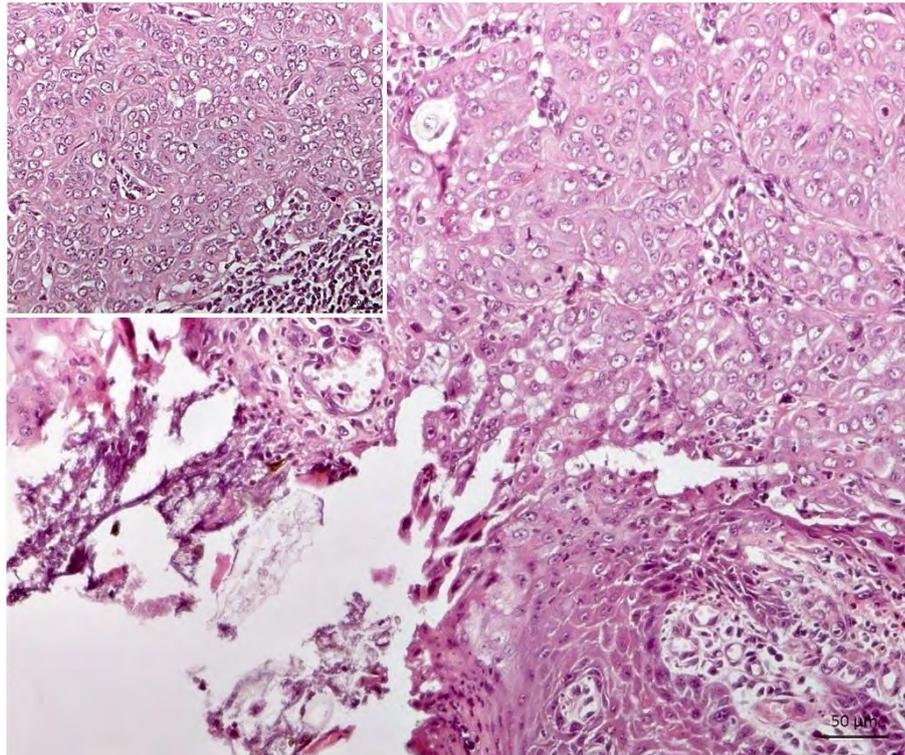


Fig. 9. Carcinoma de células escamosas moderadamente diferenciado com ulceração. As células neoplásicas que ulceram e infiltram a mucosa, apresentam acentuada anisocariose e núcleo vesicular com nucléolo evidente, há infiltrado inflamatório linfocítico no estroma circunjacente. HE, obj.20x e 40x.

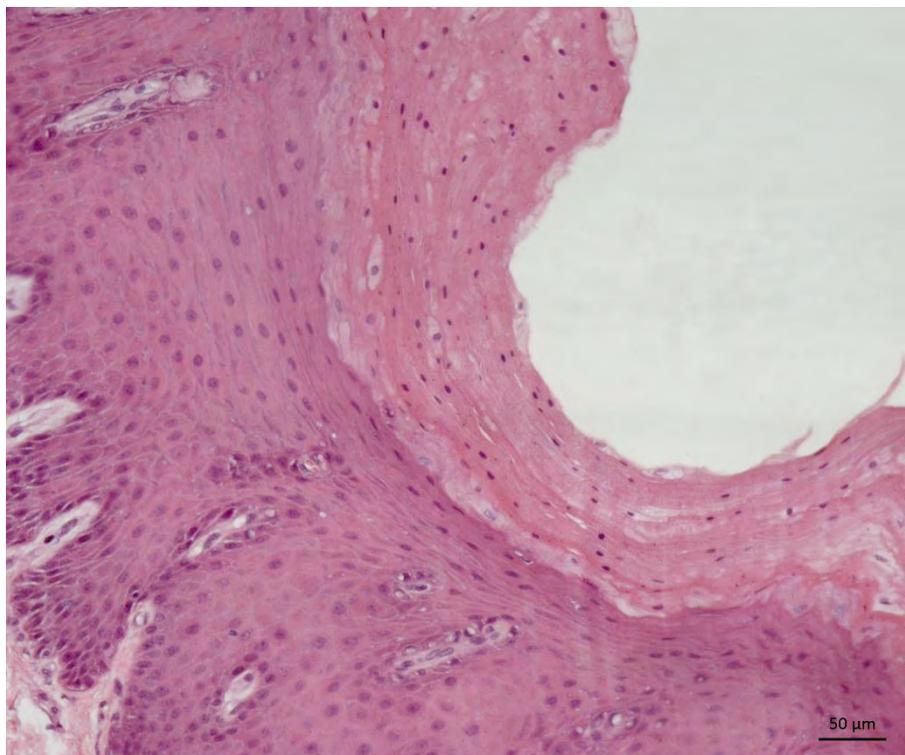


Fig. 10. Esôfago com hiperplasia e hiperqueratose paraqueratótica. Há um aumento de estratos do epitélio escamoso com retenção nuclear na camada de queratina. HE, obj.20x.

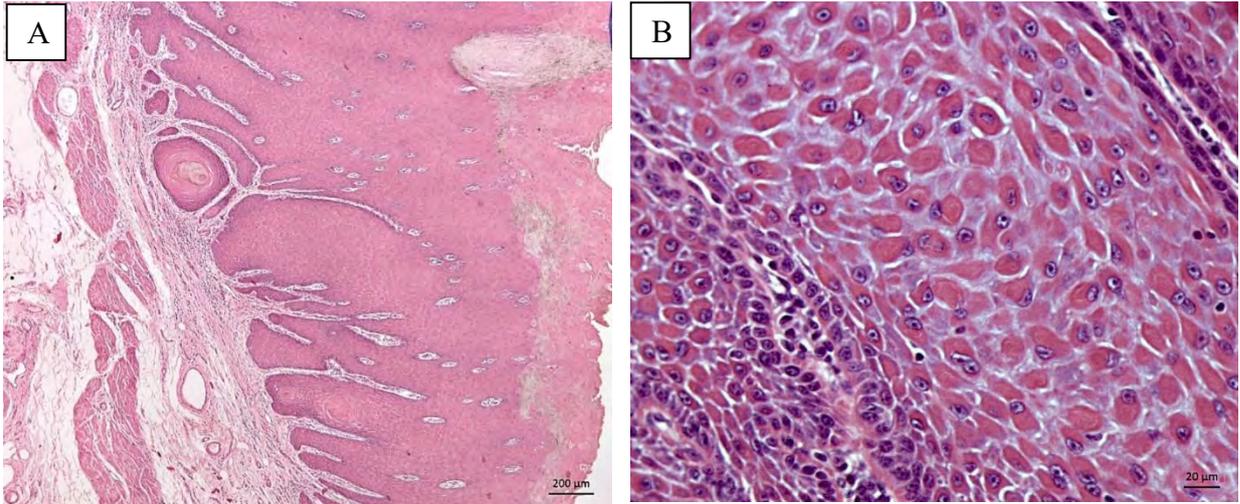


Fig. 11. (A e B) Hiperplasia pseudoepiteliomatosa com hiperqueratose paraqueratótica. Há acentuada hiperplasia do epitélio escamoso com acentuada queratinização paraqueratótica, nota-se proliferação descendente para lâmina própria digitiforme com formação de poucos ninhos com pérola de queratina HE, obj.5x. Em maior aumento nota-se que os queratinócitos estão difusamente disceratóticos, descoesos e imersos em matriz eosinofílica hialinizada (queratina). HE, obj.40x.

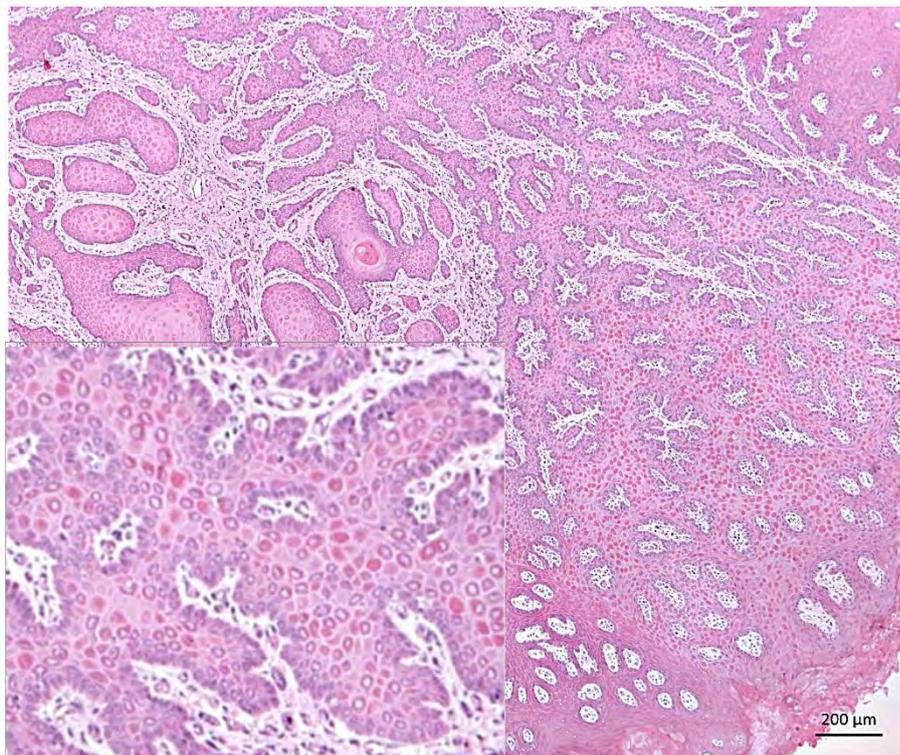


Fig. 12. Esôfago. Hiperplasia pseudoepiteliomatosa com acentuada disceratose. Há proliferação do epitélio escamoso que se projeta em trabéculas anastomosadas para a lâmina própria, notar que os queratinócitos são hipereosinofílicos e descoesos, imersos em uma matriz eosinofílica hialinizada (queratina). HE, obj.5x.

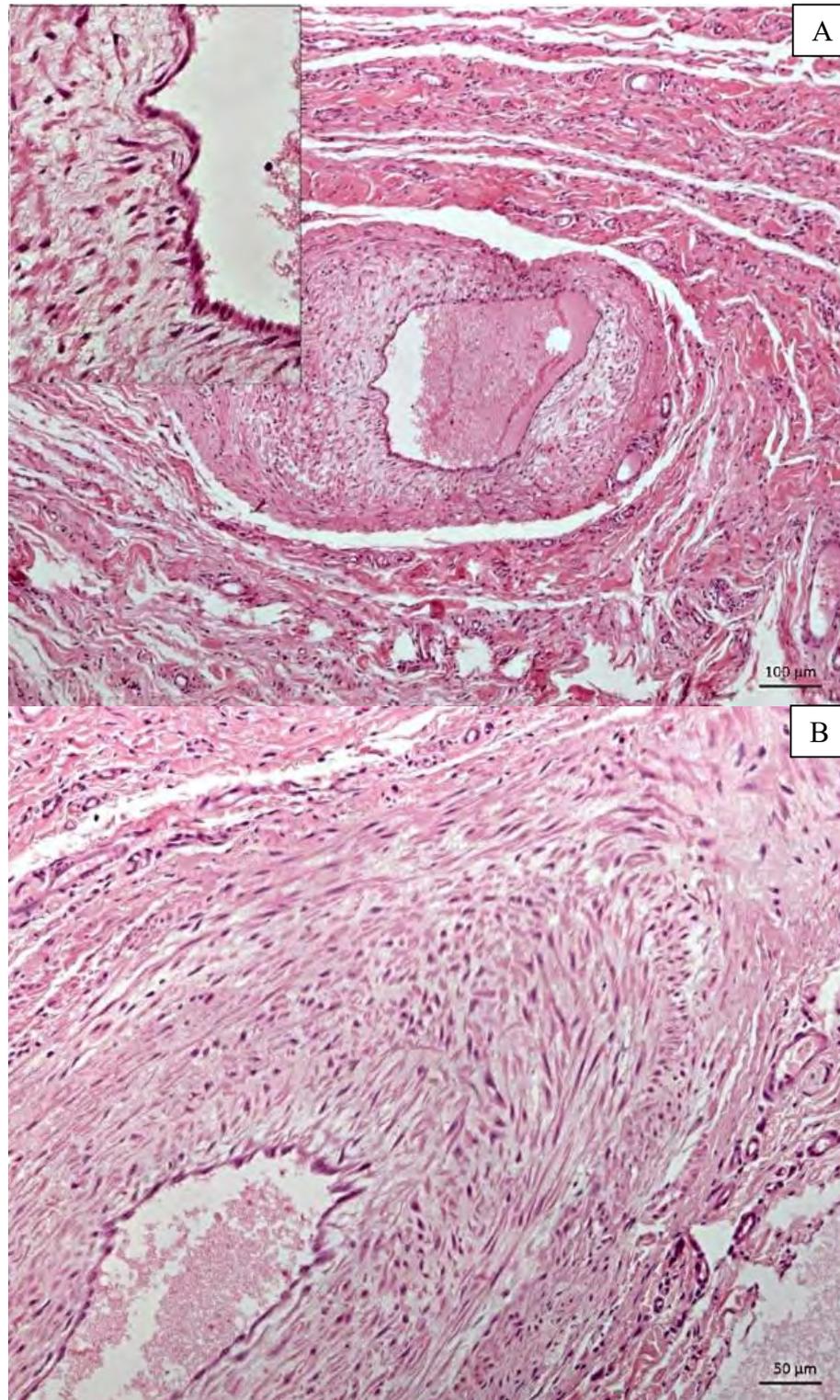


Fig. 13. (A e B) Esôfago. Edema/diferenciação mixoide intimomedial de artéria muscular. Há espaçamento das fibras musculares lisas da túnica média por material não corado ou levemente basofílico (edema-diferenciação mixoide). HE, obj.20x

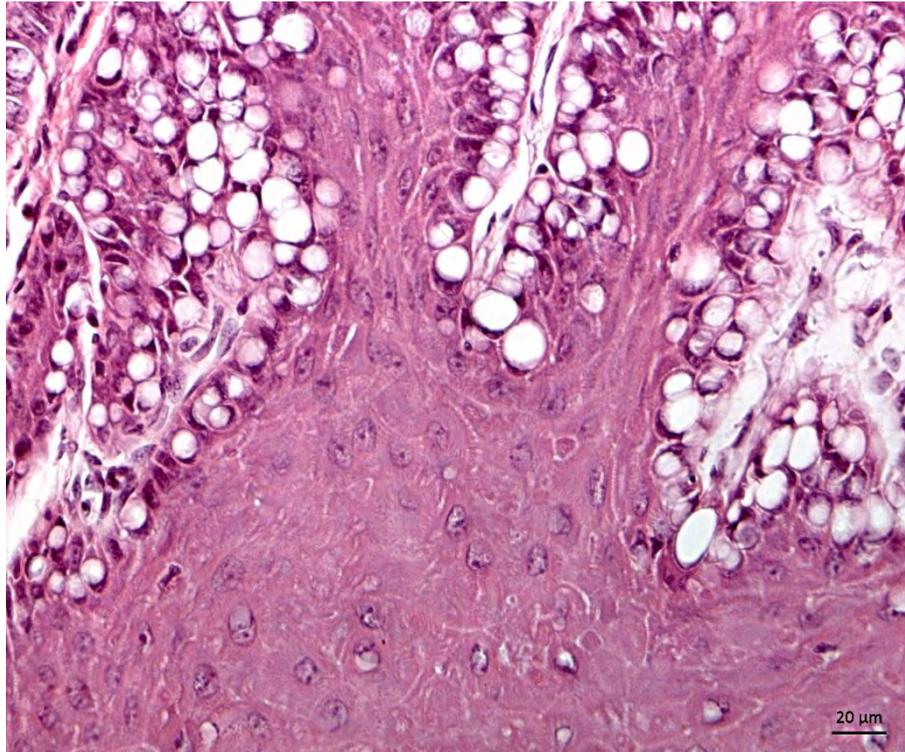


Fig. 14. Epitélio escamoso. Degeneração vacuolar das células basais. As células epiteliais basais apresentam grande vacúolo bem delimitado e não corado no citoplasma, que desloca o núcleo para periferia e o comprime, dando o aspecto de “células em anel de cinete”. HE, obj.40x.

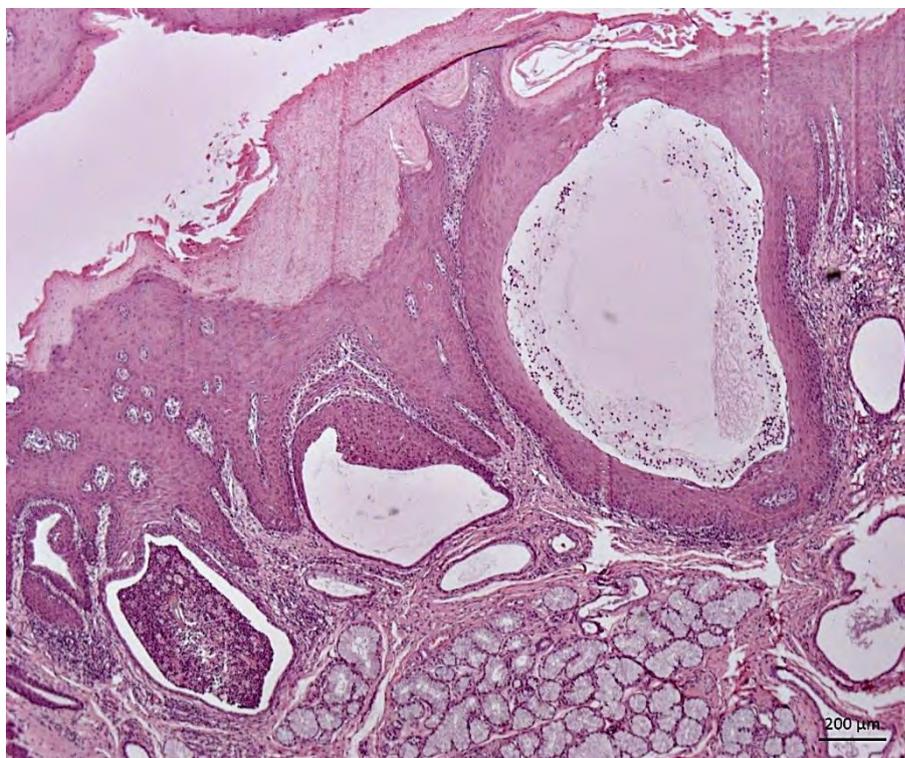


Fig. 15. Língua. Hiperplasia e hiperqueratose do epitélio de revestimento e ectasia do sistema excretor salivar por retenção obstrutiva. O epitélio escamoso apresenta hiperplasia que se estende a porção final dos ductos excretores; estes, apresentam lúmen moderadamente expandido por conteúdo mucinoso e/ou células inflamatórias. HE, obj.5x.

QUADRO 1. Avaliação microscópica das lesões neoplásicas e não neoplásicas no Trato Alimentar Superior de bubalinos intoxicados por samambaia.

	Neoplasias			Distúrbios do crescimento não neoplásico	Inflamação	Lesão vascular	Outras
	Benignas		Malignas				
	Epiteliais	Mesenquimais	Epiteliais				
Búfala 1 SAP 35208	Papiloma	Fibroma	Carcinoma epidermóide infiltrativo bem diferenciado Carcinoma epidermóide infiltrativo moderadamente diferenciado	Hiperplasia epitelial com paraqueratose +++ Displasia ++ Hiperplasia pseudocarcinomatosa	Nódulos linfóides + Infiltrado linfoplasmocítico multifocal + Infiltrado inflamatório linfocítico ao redor de células neoplásicas	Degeneração mixoide ++	Hiperceratose paraqueratótica Vacuolização citoplasmática de queratinócitos basais Úlcera (associada ao carcinoma)
Búfala 2 SAP 35240	Papiloma		Carcinoma epidermóide infiltrativo bem diferenciado	Hiperplasia do epitélio de revestimento Hiperplasia epitelial com paraqueratose ++ Displasia ++	Infiltrado linfoplasmocítico difuso na própria ++ Nódulos linfóides ++	Proliferação vascular com fibrose +	Ectasia de ductos de glândulas salivares* Edema multifocal intercelular do epitélio + Úlcera (associada ao carcinoma)
Búfala 3 SAP 35241	Papiloma		Carcinoma epidermóide infiltrativo bem diferenciado	Hiperplasia epitelial com paraqueratose ++	Infiltrado linfoplasmocítico multifocal + Infiltrado inflamatório linfoplasmo-eosinofílico ao redor de células neoplásicas	Proliferação vascular com fibrose +	Úlcera (associada ao carcinoma)

Legenda: +discreta ++moderada +++acentuada
SAP: Setor de Anatomia Patológica (UFRRJ)

DISCUSSÃO

Para diagnóstico tomou-se por base os achados morfológicos macro e microscópicos, muito característicos e eventualmente os mesmos observados em bovinos com Carcinomas das Vias Digestivas Superiores - CVDS (Tokarnia et al. 2012), aos quais somam-se a severa invasão dos pastos por *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum* e o fato de que a ocorrência de neoplasias do Trato Alimentar Superior (TAS) de bovinos constituem absoluta raridade em locais onde não grassa *Pteridium* (Tokarnia et al. 1969).

Por outro lado, há que considerarem-se as menções referentes a uma eventual participação do vírus da papilomatose bovina na gênese dessas neoplasias. Na Escócia (Jarrett et al. 1978) e na Itália (Borzacchiello et al. 2003), a presença de tumores no TAS de bovinos foi associada ao papilomavírus bovino (BPV) e à samambaia. Alguns acreditam que os papilomas do TAS de bovinos induzidos por vírus sejam ponto de partida para o desenvolvimento de carcinomas epidermóides, isto seria um foco para transformação em carcinomas de células escamosas (CCEs) em animais que se alimentam de samambaia (Campo et al. 1980, Campo et al. 1994). Porém, em 1985, os mesmos autores demonstraram que, embora necessária para a indução de papilomas, a presença do DNA do BPV não é essencial para a progressão ou manutenção do estado de transformação de papiloma a carcinoma (Campo et al. 1985) e a imunossupressão, induzida pelo consumo da planta, seria necessária para a persistência e disseminação de papilomas virais, enquanto os fatores mutagênicos da planta seriam responsáveis pela conversão de células neoplásicas de papiloma. Essa expressão contínua de funções virais, contudo, não seria necessária para a manutenção do estado maligno (Campo et al. 1994).

Em trabalho recente, Faccin et al. (2018) não detectaram DNA de BPV nos papilomas do TAS de bovinos por reação em cadeia da polimerase (PCR) e por isso descartaram a infecção por BPV como co-fator no desenvolvimento dos CCEs em bovinos.

Embora também não tenhamos detectado presença de BPV em fragmentos teciduais neoplásicos do TAS dos búfalos desse estudo, não se pode descartar a hipótese de ter havido falso negativo, mesmo porque o material testado havia sido fixado em formalina e incluído em parafina. De qualquer maneira, somos da opinião que *Pteridium* spp. são a causa principal, senão a única capaz de induzir à formação de neoplasias no TAS de bovinos e agora também de búfalos, pelas 1) evidências epidemiológicas; 2) pelo fato incontestável de que a ingestão de samambaia, por si só, induz a formação de neoplasia, não apenas em bovinos, mas também nas mais diversas espécies de animais, sejam domésticas, de laboratório, ou, mesmo aves, o que, evidentemente, independe da presença de papilomavírus; 3) pela falha em produzirem-se tumores na bexiga (Olson et al. 1959, Brobst & Olson 1965) através da inoculação de suspensão feita com papilomas de pele de bovinos, enquanto que a ingestão de *Pteridium* é capaz de levar à formação das clássicas lesões de HE (Rosenberger 1965, Stamatovic et al. 1965). Por fim, a recente reprodução de carcinomas epidermóides na base da língua, esôfago e entrada do rúmen de bovinos por meio da administração diária de *P. esculentum* subsp. *arachnoideum* a cinco bovinos pelo período de pelo menos dois anos (Gava & Ogliari 2020).

De maneira geral, dentre as enfermidades associadas ao consumo de *P. esculentum* subsp. *arachnoideum*, a forma clínica mais descrita e frequente, no Brasil e no mundo, é a Hematúria Enzoótica (HE). No Brasil, somente na região Sul (Santa Catarina e Rio Grande do Sul), verifica-se predominância de casos de neoplasias do TAS (Gava et al. 2002, Rissi et al. 2007, Souza & Graça 1993, Souto et al. 2006).

Até o momento, a ocorrência de neoplasias do TAS associadas à ingestão prolongada de samambaia em bovinos foi descrita no Brasil (Döbereiner et al. 1967, Tokarnia et al. 1969, Polack 1990, Souza & Graça 1993, Gava et al. 2002, Gabriel et al. 2009, Masuda et al. 2011, Souto et al. 2006, Faccin et al. 2017, 2018), na Escócia (Jarrett et al. 1978, Campo et al. 1985), na Itália (Borzacchiello et al. 2003) e na Bolívia (Marrero et al. 2001). No entanto, não foram encontrados relatos de neoplasias do TAS em bubalinos.

O fato das enfermidades associadas ao consumo de samambaia não terem sido anteriormente descritas em bubalinos no Brasil, talvez se correlacione à baixa população de bubalinos, em especial nas áreas onde grassa *P. esculentum* subsp. *arachnoideum*. Também é possível, como afirmam muitos produtores de São José do Barreiro, que os bubalinos sejam realmente mais resistentes ao efeito da planta do que os bovinos, aliás como já demonstrado para plantas que causam morte súbita, os bubalinos apresentam maior resistência ao efeito tóxico para algumas plantas em relação aos bovinos (Bastianetto & Barbosa 2009). A destacar-se o fato de que os animais do presente trabalho estavam em bom estado nutricional e, à exceção da hematúria, estavam aparentemente saudáveis, além de estarem todos com prenhez inicial.

Em bovinos, no Brasil, as lesões de TAS foram observados só em animais mais velhos, acima de 4-5 anos de idade (Döbereiner et al. 1967, Gava et al. 2002). No sul da Itália, onde *P. aquilinum* é comum, o exame de 1133 bovinos de matadouros com idades entre 4 e 12 anos revelou lesões esofágicas (Borzacchiello et al. 2003). As búfalas do presente estudo tinham idade (entre 6 e 8 anos) compatível com a dos bovinos acometidos pela doença (Döbereiner et al. 1967, Borzacchiello et al. 2003, Souto et al. 2006, Faccin 2018).

Os achados macro e microscópicos observados nas lesões do TAS dos bubalinos do presente trabalho assemelham-se com aqueles descritos em bovinos (Döbereiner et al. 1967, Souto et al. 2006, Gabriel et al. 2009, Tokarnia et al. 2012, Faccin et al. 2018).

Apesar das espécies serem diferentes, a natureza das lesões parece ser essencialmente a mesma, todavia, em uma das búfalas foi detectado um fibroma, exofítico, pedunculado, recoberto por mucosa e localizado na própria do esôfago. Não encontramos, na literatura, menção a neoplasias mesenquimais associadas à ingestão de *Pteridium* spp.

Trabalhos futuros a respeito da ocorrência e desenvolvimento das neoplasias do TAS em bubalinos são necessários, principalmente para entender-se melhor o comportamento epidemiológico e clínico da enfermidade nessa espécie. Compreender melhor essa enfermidade nos búfalos é muito importante, uma vez que esses animais vêm sendo utilizados como alternativa em áreas de ocorrência de HE e neoplasias de TAS em bovinos, pela premissa que seriam mais resistentes. O levantamento epidemiológico do presente estudo indica que há evidências que os búfalos são mais resistentes às lesões neoplásicas, porém essa informação precisa ser mais estudada.

CONCLUSÕES

Neoplasias do Trato Alimentar Superior (TAS) ocorrem em búfalos, decorrente do consumo de *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum*, assim como em bovinos.

Agradecimentos.- Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES). Código Financeiro 001.

Declaração de conflito de interesse.- Os autores declaram não haver conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

- Abdel-Raouf M. & El-Naggar M.A. 1968. The biometry of the gravid uterus in Egyptian buffalo cows. Zbl. Ver. Med. Reihe A 16(9), 838-854.
- Anitha, A., Rao, K. S., Suresh, J., Moorthy, P. S., & Reddy, Y. K. 2011. A body condition score (BCS) system in Murrah buffaloes. Buffalo Bull. 30(1): 79-96.
- Aydin Y. & Özkul I.A. 1995. Nonnoeoplastic findings of the urinary bladder in cattle and water buffalo in the black sea region of turkey. Ankara Univ. Vet. Fak. Derg. 42: 189-192.
- Bastianetto E. & Barbosa J.D. 2009. Diferenças fisiológicas entre bubalinos e bovinos: Interferência na produção. Proceedings of VIII Congresso Brasileiro de Buiatria, Belo Horizonte, MG, p.1-13. (Resumo)
- Borzacchiello G., Ambrosio V., Roperto S., Poggiali F., Tsirimonakis E., Venuti A., Campo M.S. & Roperto F. 2003. Bovine papillomavirus type 4 in oesophageal papillomas of cattle from the south of Italy. J. Comp. Pathol. 128(2-3): 203-206.
- Brobst D.F. & Olson C. 1965. Histopathology of urinary bladder tumors induced by bovine cutaneous papilloma agent. Cancer Res. 25:12-19.
- Campo M.S., Moar M.H., Jarrett W.F. & Laird H.M. 1980. A new papillomavirus associated with alimentary cancer in cattle. Nature 286(5769): 180-182.
- Campo M.S., Moar M.H., Sartirana M.L., Kennedy I.M., Jarrett W.F.H. 1985. The presence of bovine papillomavirus type 4 DNA is not required for the progression to, or the maintenance of, the malignant state in cancers of the alimentary canal in cattle. EMBO J. 4(7): 1819-1825.
- Campo M.S., O'Neil B.W., Barron R.J. & Jarrett W.F. 1994. Experimental reproduction of the papilloma-carcinoma complex of the alimentary canal in cattle. Carcinogenesis 15(8): 1597-1601.

- Dias J.D.C., Ignacchiti M.D.C., Giuriato P.G.G., Nunes L. C. & Pereira Jr O.S. 2012. Detecção do papilomavírus bovino tipo 2 em bexigas de bovinos com hematúria enzoótica pela técnica de reação em cadeia de polimerase no sul do Espírito Santo, Brasil. *Rev. Bras. Med. Vet.* 34(2):146-151.
- Döbereiner J., Tokarnia C.H. & Canella, C.F.C. 1967. Ocorrência da hematúria enzoótica e de carcinomas epidermóides no trato digestivo superior em bovinos no Brasil. *Pesq. Agropec. Bras.* 2:489-504.
- Faccin T.C. 2018. Carcinomas de células escamosas do Trato Alimentar Superior de bovinos associados à intoxicação crônica por samambaia (*Pteridium arachnoideum*). Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 75p.
- Faccin T.C., Cargnelutti J.F., Rodrigues F.S., Menezes F.R., Piazer J.V.M., Melo S.M.P., Lautert B.F., Flores E.F. & Kommers, G.D. 2018. Bovine upper alimentary squamous cell carcinoma associated with bracken fern poisoning: Clinical-pathological aspects and etiopathogenesis of 100 cases. *PLoS ONE* 13(9): e0204656.
- Faccin T.C., Masuda E.K., Piazer J.V.M., Melo S.M.P., Kommers G.D. 2017. Annular stenotic oesophageal squamous cell carcinoma in cattle exposed naturally to bracken fern (*Pteridium arachnoideum*). *J. Comp. Pathol.* 157(2-3): 174-180.
- Feitosa F.L.F. 2014. Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico. 3ª ed. Roca, São Paulo, p.77-102.
- Forslund O., Antonsson A., Nordin P., Stenquist B.O. & Hansson B.G. 1999. A broad range of human papillomavirus types detected with a general PCR method suitable for analysis of cutaneous tumours and normal skin. *J. Gen. Virol.* 80(9): 2437-2443.
- Gabriel A.L., Kommers G.D., Masuda E.K., Figuera R.A., Piazer J.V.M., Barros C.S.L., Martins T.B. & Rosa F.B. 2009. Aspectos clínicos-hematológicos e lesões vesicais nas formas crônicas de intoxicação espontânea por *Pteridium aquilinum* em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 29(7):515-525.
- Gava & Ogliari 2020, dados não publicados, (Universidade do Estado de Santa Catarina, campus Lages).
- Gava A., Neves D.S., Gava D., Saliba T.M., Schild A.L. & Riet-Correa F. 2002. Bracken fern (*Pteridium aquilinum*) poisoning in cattle in southern Brazil. *Vet. Hum. Toxicol.* 44(6): 362-365.
- Hirono I. 1990. Carcinogenicity of bracken fern and its causal principle. *AIAS Occas. Pub.* 40:233-240.
- Hirono I., Aiso S., Yamaji T., Mori H., Yamada K., Niwa H., Ojika M., Wakamatsu K., Kigoshi H., Niiyama K. & Uosaki Y. 1984. Carcinogenicity in rats of ptaquiloside isolated from bracken. *Gann* 75(10):833-836.
- Jarrett W.F.H., McNeil P.E., Grimshaw W.T.R., Selman I.E. & McIntyre W.I.M. 1978. High incidence area of cattle cancer with possible interaction between an environmental carcinogen and a papilloma virus. *Nature* 274(20): 215-217.
- Maiolino P., Özkul A., Sepici-Dincel A., Roperto F., Yücel G., Russo V., Urraro C., Lucà R., Riccardi M.G., Martano M., Borzacchiello G., Esposito I. & Roperto, S. 2013. Bovine papillomavirus type 2 infection and microscopic patterns of urothelial tumors of the urinary bladder in water buffaloes. *Biomed Res. Int.* 13: 1-6.
- Marrero E., Bulnez C., Sanchez L.M., Palenzuela I., Stuart R., Jacobs F. & Romero J. 2001. *Pteridium aquilinum* (bracken fern) toxicity in cattle in the humid Chaco of Tarija, Bolivia. *Vet. Hum. Toxicol.* 43(3):156-8.
- Masuda E.K., Kommers G.D., Martins T.B., Barros C.S.L., Piazer J.V.M. 2011. Morphological Factors as Indicators of Malignancy of Squamous Cell Carcinomas in Cattle Exposed Naturally to Bracken Fern (*Pteridium aquilinum*). *J. Comp. Path.* 144: 48-54.
- Meuten D.J. 2017. Tumors in Domestic Animals. 5th ed. Wiley-Blackwell, Nova Jersey, p.632-688.
- O'Connor P.J., Alonso-Amelot M.E., Roberts S. A. & Povey A.C. 2019. The role of bracken fern illudanes in bracken fern-induced toxicities. *Mutat. Res.* 782:108276.
- Olson C., Pamukcu A.M., Brobst D.F., Satter E.J. & Price J.M. 1959. A urinary bladder tumor unduced by a bovine cutaneous papillomatosis. *Am. J. Path.* 35:672.
- Özkul I.A. & Aydin, Y. 1996. Tumours of the urinary bladder in cattle and water buffalo in the Black Sea region of Turkey. *Br. Vet. J.* 152(4): 473-475.

- Pamukcu A.M. 1955. Investigations on pathology of enzootic bovine haematuria in Turkey. Zentbl. Vet. Med. 2:409-429.
- Pamukcu, A. M. 1957. Tumors of the urinary bladder in cattle and water buffalo affected with enzootic bovine hematuria. Zentralbl. Veterinaermed. 4(2), 185-197.
- Pamukcu, A. M. 1974. Tumours of the urinary bladder. Bull. Wld. Hlth. Org. 50(1-2), 43-52.
- Polack E.W. 1990. Toxicidade da *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn no Estado do Paraná: Estudo Epidemiológico e Anátomo-Patológico e Utilização da Técnica de Peroxidase-Antiperoxidase na Pesquisa do Papilomavírus em Lesões Atribuídas à Ingestão da Planta em Bovinos. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 102p.
- 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. Intoxicações por plantas e micotoxinas associadas a plantas em bovinos no Rio Grande do Sul: 461 casos. Pesq. Vet. Bras. 27(7):261-268.
- Rocha et al. 2020, dados não publicados, (Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, campus Seropédica).
- Rosenberger G. 1965. Längere Aufnahme von Adlerfarn (*Pteris aquilina*) – die Ursache der chronischen vesikalen Haematurie des Rindes. Wiener Tierärztl. Mschr. 52(5):415-421.
- Somvanshi R., Pathania S., Nagarajan N., Pangty K. & Kumar, P. 2012. Pathological study of non-neoplastic urinary bladder lesions in cattle and buffaloes: a preliminary report. Trop. Anim. Health. Prod. 44(4): 855-861.
- Souto M.A.M., Kommers C.D., Barros C.S.L., Piazer J.V.M., Rech R.R., Riet-Correa F. & Schild A.L. 2006. Neoplasias do trato alimentar superior de bovinos associadas ao consumo espontâneo de samambaia (*Pteridium aquilinum*). Pesq. Vet. Bras. 26(2):112-122.
- Souza M.V. & Graça D.L. 1993. Intoxicação crônica por *Pteridium aquilinum* (L) Kuhn (Polypodiaceae) em bovinos. Cienc. Rural 23(2): 203-207.
- Stamatovic S., Bratanovic U. & Sofrenovic D. 1965. Das klinische Bild der durch Verfütterung von Adlerfarn (*Pteris aquilina*) experimentell hervorgerufenen Haematuria vesicalis der Rinder. Wiener Tierärztl. Mschr. 52(6):589-596.
- Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção. 2ª ed. Helianthus, Rio de Janeiro, p.349-364.
- 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. II Estudos complementares. Pesq. Agropec. Bras. 4:209-224.
- Yücel Tenekeci G., Öztekin M., Bozkurt M.F., Sepici Dinçel A. & Özkul, İ.A. 2017. Pathomorphological and Immunohistochemical Studies of Tumours in the Urinary Bladders of Water Buffalo in Marmara, the Central and Western Black Sea Region of Turkey. Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg. 23(2): 269-273.

5 CAPÍTULO III

Enfermidades em búfalos e bovinos causadas por samambaia no estado de São Paulo

Artigo técnico publicado:

Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária

Número 86 – 2020

Ano XXVI – Brasília DF

ISSN 1517-6959

ENFERMIDADES EM BÚFALOS E BOVINOS CAUSADAS POR SAMAMBAIA NO ESTADO DE SÃO PAULO

Juliana F. Rocha¹, Bartolomeu B. N. Santos¹, Alexandre Galvão², Ticiane N. França³,
Luís Armando C. Brust⁴, David Driemeier⁵, Aldo Gava⁶, Paulo V. Peixoto³

¹Aluno do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR-465, Km 7, Seropédica, RJ 23897000, Brasil. E-mail:jurocha.me@gmail.com, bartolomeu.neves@gmail.com

²Médico Veterinário Autônomo, Quatis, RJ e Professor do Centro Universitário Barra Mansa (UBM), Rua Ver. Pinho de Carvalho, Centro, Barra Mansa, RJ, 27330-550, Brasil. E-mail: tandylvet@gmail.com

³Professores do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR-465, Km 7, Seropédica, RJ 23897000, Brasil. E-mail:ticianafranca19@gmail.com, pfpeixoto19@gmail.com

⁴Professor no Centro de Ensino Superior de Valença (CESVA/FAA), Rua Sargento Vitor Hugo, Fátima, Valença, RJ, 27600-000, Brasil. E-mail: armandobrust@gmail.com

⁵Professor da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, Porto Alegre, RS, 91540-000, Brasil. E-mail: ddriemeier@gmail.com

⁶Professor da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Av. Luiz de Camões, Lages, SC, 88520-000, Brasil. E-mail: aldo.gava@udesc.br

Este artigo tem por finalidade descrever e informar a respeito das enfermidades que ocorrem em bubalinos e bovinos associadas ao consumo da samambaia.

O QUE É SAMAMBAIA?

Samambaia é um termo popular dado a diversas plantas do grupo das Pteridófitas; a imensa maioria delas não é tóxica e muitas até são ornamentais. Portanto, *intoxicação por samambaia*, refere-se às doenças causadas pela ingestão de “samambaia do campo” (*Pteridium* spp., plantas cosmopolitas, distribuídas amplamente no Brasil e no mundo) - e não às samambaias de jardim. No Brasil existem duas espécies principais comprovadamente tóxicas para bovinos: ***Pteridium arachnoideum***, que se desenvolve, principalmente, como invasora em pastagens de regiões frias e de boa pluviosidade, com solos ácidos e bem drenados - sobretudo em áreas degradadas - (Fig. 1 e 2) e ***P. caudatum*** que tem sido observada em planícies de clima quente, como é o caso da Amazônia (Tokarnia et al. 2012).

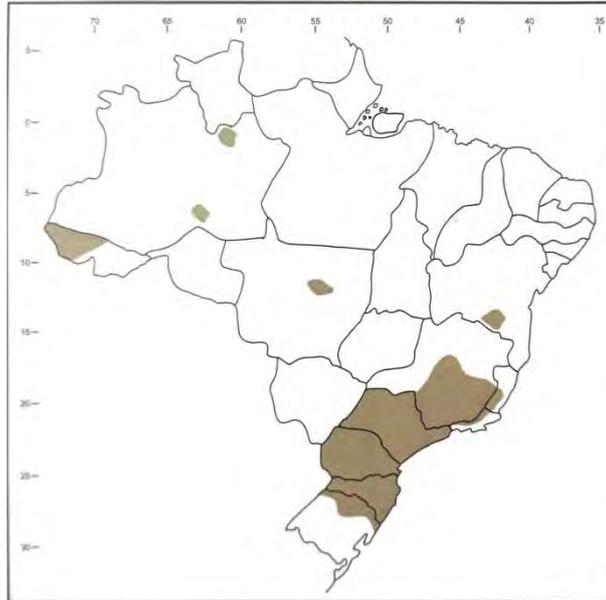


Fig. 1. Distribuição de *Pteridium* spp. no Brasil (Fonte: Livro Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção - TOKARNIA et al., 2012).



Fig. 2. *Pteridium arachnoideum* (Passa Vinte – MG). Detalhe da figura: maior aumento da folha de *P. arachnoideum*.

QUAIS DOENÇAS ESTÃO ASSOCIADAS AO CONSUMO DESSA PLANTA?

A samambaia tem como princípio tóxico um ptaquilosídeo de ação radiomimética. Ou seja, essa substância tem o mesmo efeito gerado pela exposição à radiação, como por exemplo causar câncer. Por isso, na dependência do tempo de ingestão e da quantidade de samambaia ingerida, em bovinos, o consumo pode levar à três quadros clínicos (doenças) diferentes:

- 1) **Diátese Hemorrágica (DH)** – enfermidade que simula a súbita exposição à excessiva quantidade de radiação – ocorre quando os bovinos ingerem quantidades diárias iguais ou maiores que 10g/kg/dia de samambaia, durante algumas semanas a poucos meses (para um bovino de 400kg, por exemplo, pelo menos 4kg/dia durante 3-4 semanas teriam que ser ingeridos para surgir esse problema). É uma síndrome hemorrágica aguda, *febril*, na qual *o animal sangra por qualquer ferida*, pela pele e mucosas (essa forma ainda não foi descrita em búfalos). No campo, alguns produtores dizem que o animal "sua sangue", já que pode porejar sangue pela pele íntegra.
- 2) **Hematúria Enzoótica (HE)** - doença crônica caracterizada pela eliminação de urina com sangue (bovinos e búfalos que “urinam sangue” – Fig. 3), *decorrente de tumores na bexiga* (Fig. 4). É a forma mais frequente de intoxicação por samambaia na maioria das regiões do Brasil.
- 3) **Neoplasias do Trato Alimentar Superior (TAS)**- forma crônica de “intoxicação” descoberta no Brasil pelos patologistas Carlos Tokarnia e Jürgen Döbereiner, por eles denominada de Carcinomas das Vias Digestivas Superiores (CVDS) – que consiste, basicamente, no desenvolvimento de tumores benignos e malignos na base da língua, faringe, laringe, esôfago (Fig. 5) e entrada do rúmen (Fig. 6). Até então só haviam sido descritos carcinomas epidermóides e papilomas. Em Santa Catarina os carcinomas do TAS são a principal causa de morte em bovinos adultos.

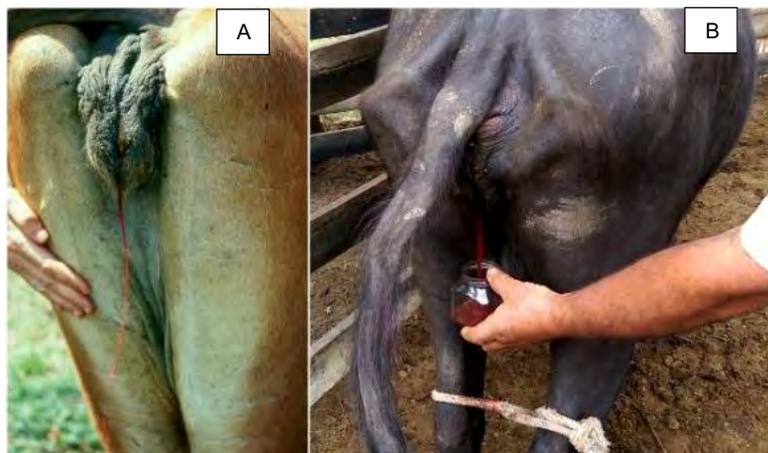


Fig. 3. A. Bovino urinando sangue - hematúria enzoótica; **B.** Búfala urinando sangue - hematúria enzoótica (São José do Barreiro – SP).

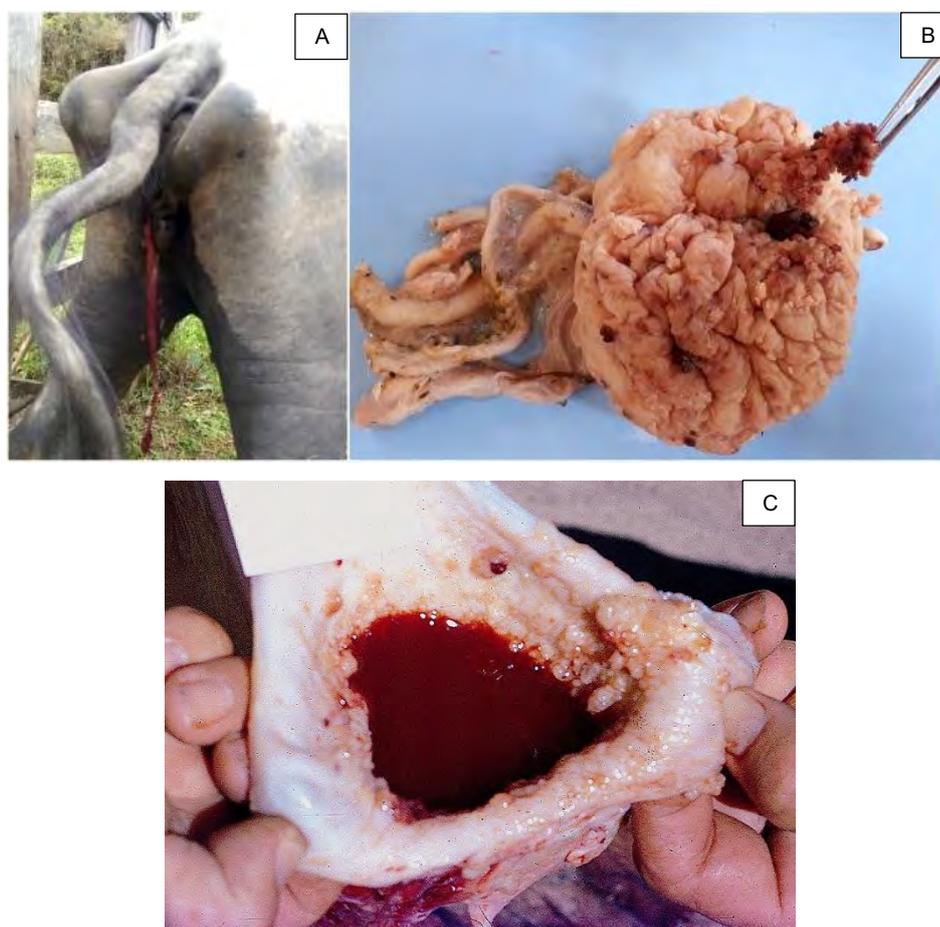


Fig. 4. A. Búfala urinando sangue - Hematúria Enzoótica (HE); **B.** Bexiga de búfala com tumores diversos - a causa da hematúria (São José do Barreiro, SP). **C.** Bexiga de bovino com HE, contendo urina sanguinolenta e tumores (Rio do Sul, SC).

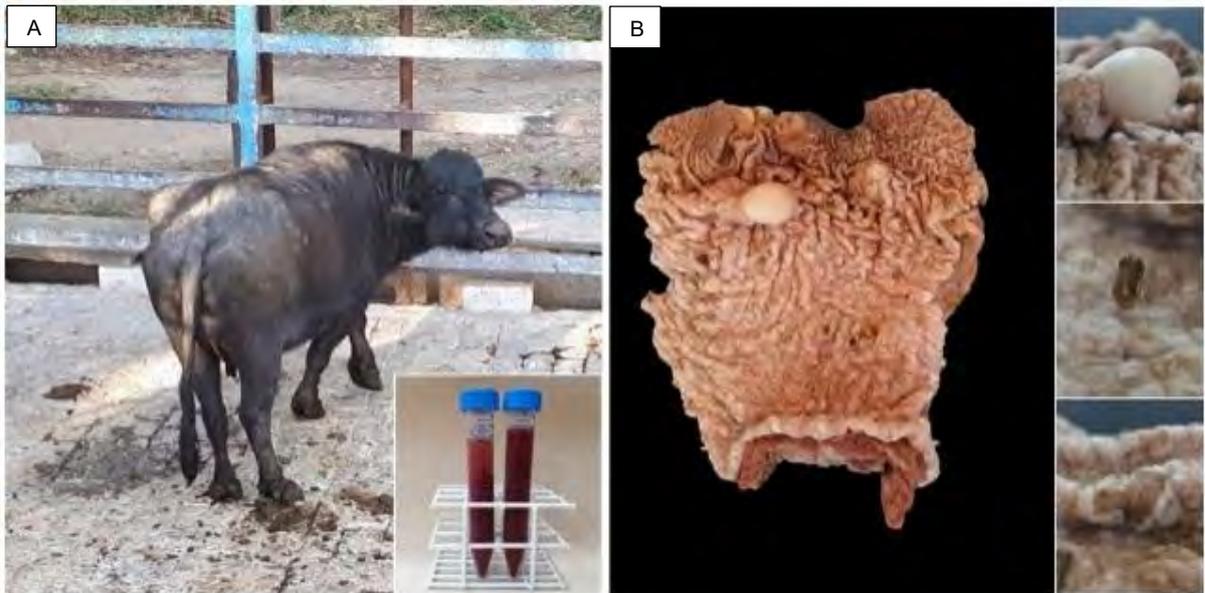


Fig. 5. A. Búfala em excelente estado nutricional, gestante, mas com Hematúria Enzoótica e Neoplasias do Trato Alimentar Superior (TAS). Detalhe da foto: urina coletada dessa búfala em um tubo. **B.** Segmento de esôfago dessa búfala com Neoplasias do TAS. Detalhe da foto: lesões em maior aumento (fibroma, semelhante a corno-cutâneo e úlcera).

Essas três formas da "intoxicação" por samambaia têm sido bem estudadas em bovinos no Brasil, contudo, até o momento, não havia relatos da HE e Neoplasias do TAS em búfalos. A partir de estudos desenvolvidos no município de São José do Barreiro (SP), mais especificamente na região conhecida como Sertão da Onça, foi possível comprovar a existência dessas duas formas em búfalos (Rocha et al. 2020, dados não publicados).



Fig. 6. **A.** Bovino com Neoplasias do Trato Alimentar Superior (TAS) com tosse. Detalhe da foto: Resíduo de conteúdo ruminal nas narinas após regurgitação (Lages, SC). **B.** Tumor no TAS (palato) de bovino mantido em região invadida por samambaia. (Fonte: Livro Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção - TOKARNIA et al., 2012). **C.** Tumor no TAS (cárdia) de bovino mantido em região invadida por samambaia.

QUAL A DIFERENÇA DA HE E DAS NEOPLASIAS DO TAS ENTRE BOVINOS E BUBALINOS?

No que se refere às lesões, basicamente, as doenças seriam as mesmas, todavia as manifestações clínicas podem passar despercebidas nos búfalos, mesmo com lesões bem estabelecidas. Também, existem indícios que os búfalos poderiam ser mais resistentes que os bovinos em relação à toxidez da planta. De fato, os pequenos produtores da área onde a HE e neoplasias do TAS foram detectadas, passaram a introduzir búfalos, como alternativa, com base na premissa de que estes seriam mais resistentes à ingestão de samambaia que o gado bovino. Por outro lado, embora essa hipótese seja possível, ainda não existem estudos científicos que a comprovem.

POR QUE MUITAS PESSOAS, NO MEIO RURAL, NÃO ACREDITAM QUE A SAMAMBAIA SEJA A CAUSA – EM BOVINOS E EM BÚFALOS - DA HEMATÚRIA ENZOÓTICA (HE), NEOPLASIAS DO TRATO ALIMENTAR SUPERIOR (TAS)?

Embora a toxidez da samambaia seja conhecida desde 1893 (Penberthy 1893), só a partir da década de 1940 foram realizados estudos a respeito da toxicidade dessa planta para animais de fazenda e de laboratório (França et al. 2002). Desde então, em numerosas pesquisas, relata-se a ocorrência da intoxicação por samambaia no Brasil e nas mais diversas partes do mundo. Muitos produtores, porém, desconhecem ou não acreditam que essa planta seja a causa dessas formas de intoxicação em bovinos.

Galvão et al. (2012) realizaram um levantamento através de questionários aplicados em 73 propriedades rurais dedicadas à bovinocultura, com presença de "samambaia", em municípios dos Estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais e São Paulo. Esse estudo confirmou e demonstrou que boa parte dos produtores tem diferentes opiniões sobre a causa da HE, das Neoplasias do TAS e da DH; veja os resultados abaixo:

- Em relação à **causa da Hematúria Enzoótica (HE)**: 34 (47%) proprietários disseram que a HE só apareceu depois da introdução de *Brachiaria* na pastagem (isso ocorreu a partir do terço inicial dos anos 1970); 15 (20%)

citaram que era a "samambaia" a causa; 8 (11%) que era acidez ou alumínio no solo; e o restante (22%) citam como causas intoxicação por água fria (2), por "água rasa" (1), ingestão de pinhão (1), verminose (1), fraqueza do animal (1), hereditariedade (2), "rompimento da veia da bexiga" (1), câncer (1) e o restante não sabia a causa (6).

- Sobre as **Neoplasias do Trato Alimentar Superior (TAS)**: 57 (78%) "conheciam" alguns sinais clínicos e 16 (22%) desconheciam a doença, mas somente 5 (8,1%) dos que conheciam a doença já haviam "associado" esta doença com HE. Dos 57 (78%) proprietários que conheciam o problema, 30 (53%) não sabiam a **causa**, 15 (26%) acreditavam ser algum tipo de câncer, 4 (7%) disseram tratar-se "figueira da goela" ou "figueira da boca do bucho", e 8 (14%) incriminaram deficiência mineral, pasto ruim e/ou "samambaia".
- A respeito da **Diátese Hemorrágica (DH)**, dos 73 proprietários, 37 (51%) não conheciam o problema. Dos 36 (49%) que já viram ou tiveram este tipo de manifestação em sua propriedade, 21 (59%) não sabiam a **causa**, 9 (25%) acreditavam que fosse pasteurelose (5 desses produtores utilizavam vacina contra pasteurelose), 3 (8%) disseram que seria picada de cobra e somente 3 (8%) afirmaram que a causa seria a "samambaia".

*Essa associação entre HE e consumo de Brachiaria é muito comum e também foi relatada pelos criadores de búfalos de São José do Barreiro, SP (Rocha et al. 2020, dados não publicados). É bom ficar claro para os produtores que, apesar de as braquiárias (*Brachiaria decumbens* e *B. brizantha*) eventualmente estarem associadas à maior ingestão de *Pteridium* (ver adiante), bem como a surtos de fotossensibilização hepatógena ("requeima" e "sapeco"), essas plantas não causam HE, nem neoplasias do TAS, nem DH e são extremamente necessárias à pecuária extensiva, uma vez que permitem aproveitamento das extensas áreas com baixa fertilidade do solo/deficiência de fósforo no Brasil.*

Dessa forma – repetimos - o **consumo de *Brachiaria* spp. por bovinos e bubalinos não leva ao desenvolvimento de HE, Neoplasias do TAS e DH**. A única relação que existe entre *Brachiaria* e o aparecimento dessas enfermidades no rebanho, é o fato de essa gramínea não apresentar a mesma palatabilidade que o capim-gordura (*Melinis minutiflora*), que predominava em áreas de pecuária leiteira na

região Sudeste, antes da introdução de *Brachiaria*. Além disso, houve subdivisão das propriedades rurais, com progressivo aumento do número de bovinos por unidade de área; conseqüentemente, os animais não têm outra alternativa, a não ser começar a ingerir ou aumentar a ingestão de *Pteridium*, dependendo do pasto em que se encontrem (Galvão et al. 2012).

É fundamental que os produtores sejam informados que a **samambaia do campo é a causa real dessas enfermidades**, para que as adequadas medidas de controle e profilaxia sejam implementadas. Produtores em áreas pequenas e com poucos recursos, todavia, tendem a não aceitar esse fato, uma vez que, usualmente, essas medidas estão além das suas possibilidades financeiras (Galvão et al. 2012). Preferem acreditar que a causa dessas formas de intoxicação seja outra, talvez pela dificuldade de combatê-la ou porque desejariam um medicamento de simples aplicação para resolver os problemas gerados pela samambaia.

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL: (COMO DIFERENCIAR AS ENFERMIDADES CAUSADAS POR SAMAMBAIA DE OUTRAS DOENÇAS?)

Abaixo estão alguns exemplos de diagnóstico diferencial para cada quadro clínico clássico da intoxicação por samambaia:

- **Diátese Hemorrágica (DH):** *intoxicação acidental por cumarínicos* (tipo de veneno de rato que mata por hemorragia); acidente ofídico por *Bothrops* (*picada de algumas cobras*, por exemplo jararaca, jararacuçu e urutu) e outras substâncias que causem hemorragia (resíduos de indústria química com efeito radiomimético), septicemias (o quadro de pasteurelose septicêmica, ao contrário do que muitos acreditam, é muito raro, se é que já foi descrito no Brasil).
- **Hematúria Enzoótica (HE):** há que dar-se especial atenção na diferenciação entre hematúria e outras condições, pelas quais os animais urinam de cor avermelhada, ou ainda cor de "coca-cola".

Doenças que causam hemoglobinúria e metahemoglobinúria, por exemplo, cursam com eliminação de urina claramente avermelhada, mas não há sangue e sim hemoglobina (é uma proteína derivada do rompimento de glóbulos

vermelhos na corrente sanguínea) na urina. A cor pode ficar parecida, mas são duas situações diferentes. Como saber de qual se trata? Simples, basta colher urina do animal suspeito e deixar o frasco em repouso para sedimentar, por 1 ou 2 horas (Fig. 7), se há sedimentação é hematúria.

- **Neoplasias do Trato Alimentar Superior (TAS):** essa forma, por provocar emagrecimento progressivo até a morte, deve ser diferenciada de outras doenças caquetizantes, como tuberculose; actinobacilose ou que causam engasgos por ossos ou corpos estranhos, com tosse evoluindo para caquexia.

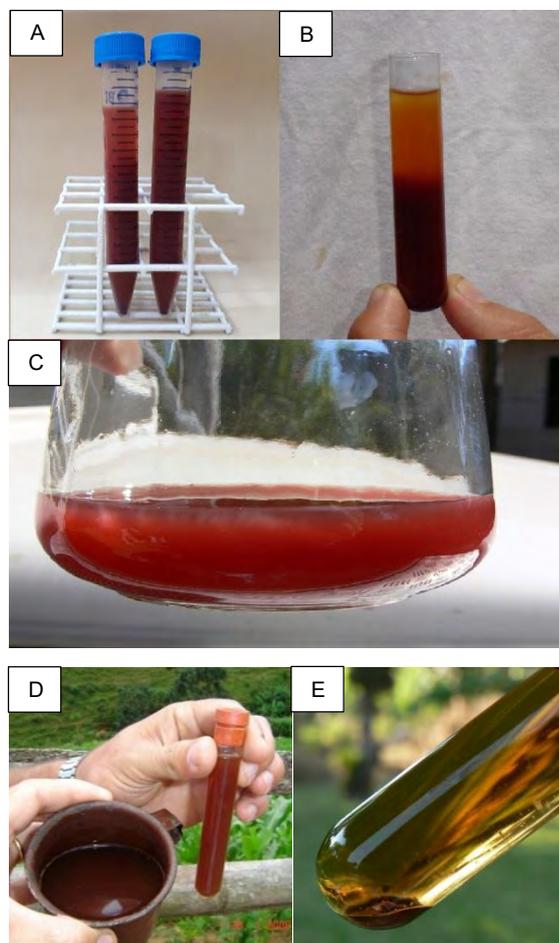


Fig. 7. **A.** Urina avermelhada colhida de búfala com Hematúria Enzoótica (HE); início da sedimentação. **B.** Urina avermelhada colhida de bovino com HE, parcialmente sedimentada após ficar em repouso. **C e D.** Urina avermelhada colhida de bovino com HE, início da sedimentação. **E.** Urina colhida de bovino com HE, sedimentada após centrifugação.

COMO PREVENIR E CONTROLAR A INTOXICAÇÃO POR SAMAMBAIA?

Quando se fala em doenças causadas pela ingestão de "samambaia", o melhor é trabalhar com a PREVENÇÃO, pois para as três doenças causadas por essa planta, não existe um tratamento totalmente eficaz e curativo.

Para a forma aguda (DH), por tratar-se de uma condição hemorrágica, preconizam-se transfusões de sangue (pouco viáveis a campo) e corticóides, além de antibióticos (para evitar infecções secundárias). O tratamento, em geral, é pouco efetivo e só surtiria efeito quando se iniciado precocemente. No passado, falava do uso de sulfato de protamina no tratamento (Tokarnia et al. 2012), porém não é um fármaco de fácil acesso e utilização na medicina veterinária.

Infelizmente, uma vez desenvolvidas as formas crônicas da doença pelo consumo da planta, não existem nem mesmo alternativas efetivas, como transferir os animais para uma área sem a presença de "samambaia", como pensava-se inicialmente. Galvão et al. (2012) demonstraram que a grande maioria (mais de 90%) dos animais afetados por Hematúria Enzoótica Bovina (HEB) morre em menos de dois anos, mesmo após retirados dos pastos invadidos por *Pteridium* sp. Além disso, essa transferência dos bovinos com HEB para regiões livres da planta é, em geral, economicamente inviável. O que muitos produtores fazem é abater os animais quando não estão muito magros ou "passam o problema", ou seja, quando um animal começa a "urinar sangue" (sinal clínico da HE) acabam-no vendendo para outro criador de áreas livres de "samambaia" com o argumento que não irão mais "urinar sangue", devido à ausência da planta na propriedade.

Por isso, os esforços devem ser concentrados em prevenir que ocorra o consumo da samambaia. Mas como fazer isso, nas propriedades que tem suas pastagens severamente invadidas por essas plantas? Uma alternativa seria fazer um planejamento estratégico de fornecimento de alimentos alternativos (forragem ajuda muito) para que os animais não sofram carência nutricional e acabem consumindo *Pteridium*. Formação e reserva de pastagens com gramíneas de qualidade; capineiras; canaviais; silagem (ex. milho, sorgo, capim, cana); cevada, etc, são bons exemplos de maneiras de suplementar os animais, principalmente na época seca do ano, quando diminui a oferta de forrageiras. Também deve-se pensar em alternativas

viáveis e eficientes para controlar o crescimento e desenvolvimento da samambaia, o que não é uma tarefa fácil.

Em 2018, a Embrapa publicou um comunicado técnico (Oliveira et al. 2018) que reúne diversas publicações sobre o assunto, e traz algumas alternativas de controle da planta, algumas de fácil execução e outras de custo mais elevada, que encontram-se em resumo abaixo:

- Cuidados intensivos com o solo e com as pastagens: aração profunda, gradagem e o corte das plantas (duas a três vezes ao ano), calagens e adubações corretas; **Obs.:** alguns experimentos foram realizados e notaram que a calagem, por si só, não surte um bom efeito no controle sobre a planta. A simples aplicação de até 1kg/m² de carbonato de cálcio – no Município de Cinha, SP – não resultou em controle da planta (Peixoto & França, dados não publicados 2003).
- Uso de herbicidas associados ao corte, duas a três vezes ao ano. Os herbicidas registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para o controle de samambaia: mistura formulada de 2,4-D + Picloram (seletiva para pastagens); Glufosinato de Amônio e Glyphosate (produtos não seletivos para pastagens e as aplicações devem ser necessariamente dirigidas sobre as plantas a fim de não prejudicar a pastagem circundante). **Obs.:** em outros países existem herbicidas seletivos para samambaia (ex. Azulam®, Asulox®), porém no Brasil não estão liberados o uso.
- Proteger contra o fogo as áreas de pastagens invadidas com samambaias, pois a ocorrência de incêndios favorece o estabelecimento das plantas e a brotação;
- Implementar cultivos anuais (ex.: milho, soja, feijão) e árvores integrados com pasto, exemplo, sistema de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta (ILPF);
- Reformar as pastagens, utilizando espécies forrageiras que cobrem rapidamente o solo e são competitivas (ex.: *Brachiaria decumbens* e a *Setaria* sp.).

Intervenções esporádicas e pontuais no controle de samambaia nem sempre surtem bons resultados e requerem planejamento de longo prazo. As medidas de controle e profilaxia a serem tomadas, devem ser adaptadas a cada situação, isto é,

a cada propriedade, uma vez que a alimentação e o manejo nunca são iguais entre os estabelecimentos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A "samambaia" tem um papel negativo muito importante na pecuária nacional, pois sua presença nas pastagens, invadindo, por vezes, 60 a 90% da área total da propriedade, leva a graves prejuízos econômicos e *problemas sociais*.

De fato, em regiões severamente invadidas por *Pteridium* spp., os prejuízos econômicos são muito significativos, em especial, na pecuária de leite (Galvão et al. 2012). Em algumas propriedades até 90% das vacas de leite "urinam sangue" (França et al. 2002). O problema é tão sério que, nessas áreas muito invadidas, os pequenos produtores, por não suportarem os prejuízos, terminam por vender suas propriedades (Fig. 8) e migrar para a periferia de cidades pequenas e médias (Galvão e Peixoto, dados não publicados).

Seria desejável que as autoridades sanitárias, ligadas à área de Pecuária, estudassem maneiras de socorrer e auxiliar esses produtores em dificuldades no enfrentamento aos sérios problemas econômicos gerados pela ingestão de "samambaia do campo". Linhas de crédito e auxílio técnico adequado talvez pudessem ser implantados para minimizar os prejuízos que têm redundado na migração compulsiva para as cidades próximas.



Fig. 8. Propriedade com pastagem formada de *Brachiaria* e invadida por *Pteridium arachnoideum*, com placa de vende-se (São José do Barreiro – SP).

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES). Código Financeiro 001.

Esse artigo, pelo conjunto de informações apresentadas de forma simples e objetiva, pode ser considerado uma tentativa de homenagear o Prof. Carlos Hubinger Tokarnia e o Dr. Jürgen Döbereiner, cientistas que dedicaram suas vidas ao diagnóstico e à pesquisa veterinários.

REFERÊNCIAS

- FRANÇA, T.N.; TOKARNIA, C.H.; PEIXOTO, P.V. Enfermidades determinadas pelo princípio radiomimético de *Pteridium aquilinum* (Polypodiaceae). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.22, n.3, p.85-96, 2002.
- GALVÃO, A.; BRITO, M.F.; ARAGÃO, A.P.; YAMASAKI, E.M.; PEIXOTO, P.V.; TOKARNIA, C.H. Sobrevivência/viabilidade de bovinos com Hematúria Enzoótica após transferência para região livre de *Pteridium arachnoideum*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.9, p.887-902, 2012.
- OLIVEIRA, V.M.; SCHWARTSBURD, P.B.; BRIGHENTI, A.M.; D'OLIVEIRA, P.S.; MIRANDA, J.E.C. Plantas Tóxicas em Pastagens: Samambaia-do-campo (*Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum* (Kaulf.) Thomson, Família Dennstaedtiaceae). **Embrapa Gado de Leite-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**. 2018.
- PENBERTHY J. Vegetable poisoning (?) simulating anthrax in cattle. **Journal of Comparative Pathology and Therapeutics**, v.6, p.266-275, 1893.
- TOKARNIA, C.H.; BRITO, M.F.; BARBOSA, J.D.; PEIXOTO, P.V.; DÖBEREINEIR, J.; **Plantas Tóxicas do Brasil**. 2. ed. Rio de Janeiro: Helianthus, 566p., 2012.

6 CONCLUSÕES GERAIS

A Hematúria Enzoótica (HE) e as neoplasias do Trato Alimentar Superior (TAS), assim como em bovinos, também ocorrem em bubalinos no Brasil, no entanto, não está claro se os búfalos são mais resistentes que os bovinos, porém existem fortes evidências que sejam. Diante dos dados epidemiológicos e da observação clínica dos animais do presente estudo, sugere-se que a evolução clínica dessas enfermidades, nessa espécie, seja mais branda que nos bovinos. Ou seja, bubalinos com quadro clínico de HE apresentam evolução mais crônica e não ficam tão debilitados quanto os bovinos. Em relação as neoplasias do TAS, não foram evidenciados sinais clínicos compatíveis com a doença, apenas lesões neoplásicas e não neoplásicas foram encontradas no TAS desses animais. As lesões neoplásicas e não neoplásicas observadas nas três búfalas se assemelham muito às descritas na literatura, tanto em bovinos quanto em bubalinos que consomem samambaia. Portanto, estudos epidemiológicos e clínicos comparativos entre as espécies precisam ser realizados.

Pteridium esculentum subsp. *arachnoideum* tem um papel muito importante na pecuária nacional, pois sua presença nas pastagens, invadindo, por vezes, 60 a 90% da área total da propriedade, leva a graves prejuízos econômicos e problemas sociais. Por esses motivos faz-se necessário estudar maneiras de auxiliar esses produtores em dificuldades no enfrentamento aos sérios problemas econômicos e sociais gerados pela ingestão de samambaia.

ANEXOS

Anexo A. Classificação oficial dos tumores de bexiga urinária em humanos do Instituto de Patologia das Forças Armadas dos Estados Unidos da América – AFIP (Murphy et al. 1994).

NEOPLASIAS EPITELIAIS	NEOPLASIAS NÃO-EPITELIAIS
Neoplasias de células transicionais Papiloma Invertido Exofítico Carcinoma Baixo grau Alto grau Carcinoma in situ Variantes do carcinoma de células transicionais Carc. de céls. trans. pseudoglandular (gland like lumen) Carc. de céls. trans. tipo ninhado Carc. sarcomatóide Carcinoma de células escamosas Carc. verrucoso Carcinoma misto Adenocarcinoma Carc. de céls. "signet ring" (anel de sinete) Carc. de céls. claras Tumor viloso Carcinoma pobremente diferenciado/carc. de pequenas células Neoplasias raras Carcinossarcoma Tumor carcinoide Melanoma Carcinoma linfo-epitelial Carcinoma plasmocitóide Carcinoma com estroma fusocelular Carcinoma de células gigantes	Tumores mesenquimais Benignos Malignos Feocromocitoma (paraganglioma) Linfoma Plasmocitoma Neoplasias de células germinativas CONDIÇÕES TUMORAIS NÃO-NEOPLÁSICAS Condiloma acuminatum – papiloma escamoso Metaplasia Escamosa Intestinal Nefrogênica (adenoma mesonefróide) Inflamação Nódulo fusocelular pós-operatório Pseudotumor inflamatório (tumor fibromixóide pseudossarcomatoso) Malacoplaquia Cistite xantogranulomatosa Granulomas "Cistites" Glandular e cística Folicular Bolhosa Polipóide Pólipo fibroepitelial Enfisematosa Amiloidose Restos teciduais (embrionários), coristomas, hamartomas Cistos Endometrioses e endocervicose Próstata ectópica Tecido paragandliônico Hematopoiese extra-medular Hamartoma

*Adaptado de França 2002.

Anexo B. Classificação dos tumores de bexiga urinária em humanos do livro Ackerman's Surgical Pathology (Ordóñez & Rosai 1996).

CONDIÇÕES METAPLÁSICAS	OUTROS CARCINOMAS PRIMÁRIOS
Metaplasia intestinal (glandular) e/ou alterações císticas Metaplasia mesonefróide (adenomatóide, nefrogênica) Metaplasia escamosa	Adenocarcinoma Tipo células claras (mesonefróide, mesonéfrico) Tipo carcinoma "signet ring" (anel de sinete) Tipo adenocarcinoma hepatoide
LESÕES SEMELHANTES A TUMOR	Carcinomas de pequenas células e tumores neuroendócrinos relacionados
Granulomas pós-operatório Nódulo fusocelular pós-operatório Pseudotumor inflamatório Reação estromal pseudossarcomatosa Pólipos tipo prostático Xantoma Hamartoma Hematopoiese extra medular	Carcinomas de células escamosas e tumores relacionados Carcinoma de células escamosas Carcinoma verrucoso Carcinoma semelhante a linfo-epitelioma Carcinoma sarcomatóide
TUMORES BENIGNOS	OUTROS TUMORES MALIGNOS
Papiloma invertido Adenoma viloso Condiloma acuminatum Paraganglioma Tumores benignos raros (cistadenoma, leiomioma, hemangioma, linfangioma, malformações arterio-venosas, shawannoma, neurofibroma, tumor de céls. granulares)	Rabdomiossarcoma embrionário (subtipo botríóide) Leiomiossarcoma Rabdomiossarcoma Tumor rabdóide Histiocitoma fibroso maligno Osteossarcoma Mesenquimona maligno
CARCINOMA DE CÉLULA TRANSICIONAL	Melanoma maligno
Grau I, II, III e IV Carcinoma in situ e displasia	Leucemia Plasmocitoma Mieloma múltiplo Doença de Hodgkin's Tumor do saco de Yolk Tumores metastáticos

*Adaptado de França 2002.

Anexo C. Classificação histológica internacional dos tumores de animais domésticos da Organização Mundial da Saúde (WHO) - Tumores de bexiga urinária (Pamukcu 1974).

I – TUMORES EPITELIAIS	II – TUMORES NÃO-EPITELIAIS
A – Papiloma	A – Tumores musculares Leiomoma Leiomiossarcoma
B – Adenoma	B – Tumores vasculares Hemangioma Hemangiossarcoma Hemangiopericitoma
C – Carcinoma de células transicionais Carcinoma não-infiltrativo e não-papilar Carcinoma papilar Carcinoma infiltrativo e papilar Carcinoma infiltrativo	C – Tumores fibroblásticos Fibroma Fibrossarcoma Sarcoma (não-classificado)
D – Variantes do carcinoma de células transicionais 1. Com metaplasia escamosa 2. Com metaplasia glandular 3. Com metaplasia escamosa e glandular	D – Outros tumores não-epiteliais
E – Carcinomas de células escamosas	III – TUMORES COM COEXISTÊNCIA DE ELEMENTOS EPITELIAL E MESENQUIMAIS (carcinossarcoma, carcinohemangioma, carcinoleiomiiossarcohemangioma, adenoemangioma, adenocarcinoemangioma, papiloemangioma)
F – Adenocarcinomas	IV – TUMORES SECUNDÁRIOS
G – Carcinoma indiferenciado	V – TUMORES NÃO-CLASSIFICADOS
	VI – MUDANÇAS PROLIFERATIVAS Ninhos de Brunn Metaplasia glandular (cistite glandular) Metaplasia escamosa Cistite cística Cistite papilar (polipoide)

*Adaptado de França 2002.

Anexo D. Classificação histológica internacional dos tumores de animais domésticos da Organização Mundial da Saúde (WHO) - Tumores do sistema urinário e órgãos genitais masculinos (Humphrey et al. 2016).

<p>Tumores uroteliais</p> <ul style="list-style-type: none"> Carcinoma urotelial infiltrativo <ul style="list-style-type: none"> Ninhado, incluindo ninhados grandes Microcístico Micropapilar Linfoepitelioma-like Plasmacitóide/ célula de anel de sinete/ difusa Sarcomatoide Célula gigante Pouco diferenciado Rico em lipídios Célula clara Neoplasias uroteliais não-invasivas <ul style="list-style-type: none"> Carcinoma urotelial in situ Carcinoma urotelial papilar não-invasivo, baixo grau Carcinoma urotelial papilar não-invasivo, alto grau Neoplasma urotelial papilar de baixo potencial maligno Papiloma urotelial Papiloma urotelial invertido Proliferação urotelial de potencial maligno incerto Displasia urotelial Neoplasias de células escamosas <ul style="list-style-type: none"> Carcinoma de células escamosas puro Carcinoma verrucoso Papiloma de células escamosas Neoplasia glandular <ul style="list-style-type: none"> Adenocarcinoma, NOS <ul style="list-style-type: none"> Entérico Mucinoso Misto Adenoma viloso Carcinoma do úraco 	<p>Tumores do tipo Mülleriano</p> <ul style="list-style-type: none"> Carcinoma de células claras Carcinoma endometrióide Tumores neuroendócrinos <ul style="list-style-type: none"> Carcinoma neuroendócrino de pequenas células Carcinoma neuroendócrino de grandes células Tumor neuroendócrino bem diferenciado Paraganglioma Tumores melanocíticos <ul style="list-style-type: none"> Melanoma maligno Naevus Melanose Tumores mesenquimais <ul style="list-style-type: none"> Rabdomiossarcoma Leiomiossarcoma Angiossarcoma Tumor miofibroblástico inflamatório Tumor celular epitelióide perivascular <ul style="list-style-type: none"> Benigno Maligno Tumor fibroso solitário Leiomioma Hemangioma Tumor celular granular Neurofibroma Tumores de trato urotelial hematopoiético e linfoides Tumores miscelaneos <ul style="list-style-type: none"> Carcinoma de glândulas de Skenes, Cowper e Littre Tumores metastáticos e tumores estendendo-se de outros órgãos Tumores epiteliais de trato urinário superior Tumores que surgem em um divertículo da bexiga Tumores uroteliais da uretra
---	---

*Adaptado de Humphrey et al. 2016.

Anexo E. Classificação dos tumores uroteliais do livro Essentials of Anatomic Pathology – Bexiga Urinária (Cheng & Lopez-Beltran 2016).

<p>Tumores uroteliais</p> <p>Papiloma urotelial (benigno)</p> <p>Papiloma invertido (benigno)</p> <p>Proliferação urotelial de potencial maligno incerto (anteriormente hiperplasia urotelial)</p> <p>Carcinoma urotelial papilar não invasivo</p> <p>Carcinoma urotelial invasivo</p> <p>Variantes</p> <p>Diferenciação divergente (especificar porcentagem)</p> <p>Com diferenciação escamosa</p> <p>Com diferenciação glandular</p> <p>Com diferenciação trofoblástica</p> <p>Ninhado, incluindo ninhados grandes</p> <p>Microcístico</p> <p>Micropapilar</p> <p>Linfoepitelioma-like</p> <p>Plasmacitóide</p> <p>Sarcomatoide</p> <p>Célula clara (rica em glicogênio)</p> <p>Célula lipóide (rica em lipídios)</p> <p>Carcinoma de células gigantes pleomórfico</p> <p>Carcinoma urotelial com reações incomuns no estroma</p> <p>Com estroma pseudosarcomatoso</p> <p>Com metaplasia óssea ou cartilaginosa estromal</p> <p>Neoplasias escamosas</p> <p>Papiloma de células escamosas</p> <p>Carcinoma de células escamosas</p> <p>Variantes</p> <p>Carcinoma espinocelular verrucoso</p> <p>Carcinoma basocelular de células escamosas</p> <p>Carcinoma de células escamosas associado ao esquistossomose</p>	<p>Neoplasias glandulares</p> <p>Adenoma viloso</p> <p>Adenocarcinoma</p> <p>Tumor do tipo mülleriano</p> <p>Carcinoma de células claras</p> <p>Tumores neuroendócrinos</p> <p>Paraganglioma</p> <p>Carcinóide</p> <p>Carcinoma neuroendócrino de grandes células</p> <p>Carcinoma de pequenas células</p> <p>Carcinoma sarcomatoide</p> <p>Tumores de tecidos moles</p> <p>Leiomioma</p> <p>Tumor de células granulares</p> <p>Neurofibroma</p> <p>Hemangioma</p> <p>Tumor fibroso solitário</p> <p>Tumor miofibroblástico inflamatório</p> <p>Tumor de células epitelioides perivasculares (PEComa)</p> <p>Rabdomiossarcoma</p> <p>Leiomiossarcoma</p> <p>Angiossarcoma</p> <p>Osteossarcoma</p> <p>Outras</p>
--	---

*Adaptado de Cheng & Lopez-Beltran 2016.

Anexo F. Sistema TNM de câncer de bexiga (Cheng & Lopez-Beltran 2016.)

<p>Tumor Primário (T)</p> <p>◆ Bexiga urinária</p> <ul style="list-style-type: none"> - TX: O tumor primário não pode ser avaliado - T0: Nenhuma evidência de tumor primário - Ta: carcinoma papilar não invasivo - Tis: Carcinoma in situ: “fl no tumor” - T1: Tumor invade tecido conjuntivo subepitelial - T2: Tumor invade muscularis propria - T2a: o tumor invade os músculos superficiais superficiais (metade) - T2b: Tumor invade musculares profundas próprias (metade externa) - T3: Tumor invade tecido perivesical - T3a: Microscopicamente - T3b: macroscopicamente (massa extravésical) - T4: o tumor invade qualquer um dos seguintes: estroma prostático, vesículas seminais, útero, vagina, parede pélvica, abdominal parede - T4a: o tumor invade o estroma prostático, o útero ou a vagina - T4b: Tumor invade a parede pélvica e a parede abdominal <p>◆ Carcinoma urotelial (célula de transição) da próstata</p> <ul style="list-style-type: none"> - Tis pu: Carcinoma in situ, envolvimento da próstata uretra - Tis pd: Carcinoma in situ, envolvimento da próstata dutos 	<ul style="list-style-type: none"> - T1: Tumor invade conjuntivo subepitelial da uretra tecido - T2: o tumor invade qualquer um dos seguintes: estroma da próstata, corpo esponjoso e músculo periuretral - T3: o tumor invade qualquer um dos seguintes: corpo cavernoso, além da cápsula prostática e colo da bexiga (extraprostática extensão) - T4: o tumor invade outros órgãos adjacentes (invasão do bexiga) <p>◆ Linfonodos Regionais (N)</p> <ul style="list-style-type: none"> - NX: os linfonodos não podem ser avaliados - N0: Sem metástase linfonodal - N1: Metástase de linfonodo regional único na verdadeira pelve (hipogástrica, obturadora, íliaca externa ou pré-sacral) linfonodo) - N2: Várias metástases de linfonodos regionais no verdadeiro pelve (hipogástrica, obturadora, íliaca externa ou pré-sacral) linfonodo) - N3: metástase linfonodal na linfa íliaca comum nós <p>◆ Metástase Distante (M)</p> <ul style="list-style-type: none"> - MX: metástases distantes não podem ser avaliadas - M0: Sem metástase distante - M1: Não há metástases
---	---

*Adaptado de Cheng & Lopez-Beltran 2016.

Anexo G. Critérios de diagnóstico para o sistema de classificação recém-proposto de carcinoma urotelial da bexiga (Cheng et al. 2012)

Características	Grau 1 (baixo grau)	Grau 2 (baixo grau)	Grau 3 (alto grau)	Grau 4 (alto grau)
Camadas de células aumentadas (N7)	sim	variável	variável	variável, geralmente camadas b7
Células guarda-chuva superficiais	presentes	frequentemente presentes	geralmente ausentes	geralmente ausentes
Polaridade / arquitetura geral	normal	moderadamente distorcido	moderadamente distorcido	severamente distorcido
Descoesividade	normal	normal	leve a moderada	grave
Citoplasma claro	pode estar presente	pode estar presente	normalmente ausente	geralmente ausente
Tamanho nuclear	normal ou ligeiramente aumentado	moderadamente aumentado	moderadamente aumentado	acentuadamente aumentado
Pleomorfismo nuclear	uniforme, ligeiramente alongado para oval	leve, redondo para oval com ligeira variação em forma e contorno	moderado	marcado
Polarização nuclear	normal a ligeiramente anormal	anormal	anormal	ausente
Hipercromasia nuclear	leve ou mínima	leve	moderada	grave
Ranuras nucleares	presentes	presentes	ausentes	ausentes
Nucléolos	ausentes ou imperceptíveis	imperceptível	aumentado, frequentemente proeminente	vários nucléolos proeminentes
Figuras mitóticas	nenhuma / rara, localização basal	pode estar presente, em qualquer nível	frequentemente presente	proeminente e frequente, formas atípicas frequentemente presente
Invasão estromal	raro	incomum	pode estar presente	

NOTA. Na proposta atual, os tumores de grau 1 (baixo grau) são classificados como PUNLMP no sistema de classificação da OMS de 2004; tumor de grau 2 (baixo grau) são classificados como “carcinoma urotelial de baixo grau” (2004 WHO / ISUP); e tumores de grau 3 (alto grau) e grau 4 (alto grau) são classificados como “carcinoma urotelial de alto grau” (OMS / ISUP 2004).

*Adaptado de Cheng et al. 2012.

ANEXO H. Achados histopatológicos das Búfalas com Hematúria Enzoótica.

Búfala 1 (SAP 35208)

- **Bexiga:** projeções papiliformes multifocais revestidas por urotélio neoplásico com diferentes graus de desorganização e atipia, variando de papilomas e carcinomas papilares de baixo e alto grau. Havia raras áreas de invasão de carcinomas papilares na lâmina própria. Carcinomas uroteliais invasivos não papilares, eram representados pela variante histológica microcística, além de áreas com diferenciação divergente em epitélio escamoso e glandular com diferenciação intestinal e apócrina, todos invadiam apenas a lâmina própria. Notavam-se poucos focos de carcinoma in situ, frequentemente próximos as áreas de invasão. Displasia urotelial discreta, moderada ou acentuada com pouca ou nenhuma inflamação adjacente também foram observadas. Áreas de moderada displasia e atipia que mantinham a diferenciação das células basais, intermediárias e superficiais associadas a infiltrado inflamatório moderado ou acentuado (cistite) foram interpretadas como atipia e displasia reativas. Havia focos de metaplasia escamosa do urotélio que por vezes era discretamente queratinizado. Proliferações uroteliais benignas eram representadas por hiperplasia plana e papilar que frequentemente invaginavam para a lâmina própria e formavam ninhos de Brunn. Notava-se raros focos de ulceração e moderados focos de erosão do urotélio. A lâmina própria apresentava focos de fibrose, diferenciação mixoide e deposição de amiloide. A túnica média e em menor grau a adventícia de algumas artérias musculares apresentavam diferenciação mixoide. Infiltrado inflamatório linfoplasmocítico ocorria em formação de folículos (cistite folicular), em projeções polipoides da mucosa (cistite polipoide) e por vezes, em banda focalmente extensa, transpondo o epitélio. Além dessas alterações inflamatórias, também foram observados focos de proliferação vascular, por vezes atípica, apresentando endotélio com núcleo grande, irregular ou até mesmo multinucleado, como um hemangiossarcoma incipiente. Notava-se ainda focos de hemangioma capilar e cavernoso, inclusive, este, colidindo com foco de carcinoma urotelial papilar não invasivo de alto grau.
- **Ureter:** áreas com discreta anisocariose.
- **Rim:** degeneração em gota hialina.

Búfala 2 (SAP 35240)

- **Bexiga:** projeções papiliformes multifocais revestidas por urotélio neoplásico com diferentes graus de desorganização e atipia, variando de papilomas e carcinomas papilares de baixo e alto grau. Havia raras áreas de invasão de carcinomas papilares alto grau na lâmina própria. Carcinomas uroteliais não papilares invasivos, eram representados pela variante histológica microcística e invadiam apenas a lâmina própria. Notavam-se poucos focos de carcinoma in situ, frequentemente próximos as áreas de invasão. Displasia urotelial discreta, moderada ou acentuada com pouca ou nenhuma inflamação adjacente também foram observadas. Áreas de moderada displasia e atipia que mantinham a diferenciação das células basais, intermediárias e superficiais associadas a infiltrado inflamatório moderado ou acentuado (cistite) foram interpretadas como atipia e displasia reativas. Havia focos de metaplasia escamosa e intestinal

do urotélio. Proliferações uroteliais benignas eram representadas por hiperplasia plana e papilar que frequentemente invaginavam para a lâmina própria e formavam ninhos de Brunn. Cistite glandular, cistite glandular com diferenciação intestinal, cistite cística e raros focos de ulceração e moderados focos de erosão do urotélio eram visualizados. A lâmina própria apresentava focos de fibrose e diferenciação mixoide. A túnica média e em menor grau a adventícia de algumas artérias musculares apresentavam diferenciação mixoide. Infiltrado inflamatório linfoplasmocítico com poucos histiócitos, ocorria em formação de folículos (cistite folicular), em projeções polipoides da mucosa (cistite polipoide) e por vezes, em banda focalmente extensa, transpondo o epitélio. Além dessas alterações inflamatórias, também foram observados focos de proliferação vascular típica e atípica, além de hemangiossarcoma e linfangiossarcoma subepitelial. Notavam-se também áreas de hemorragia e necrose superficiais.

- **Rim:** leve anisocariose das células dos tubos coletores nas proximidades da pelve, depósito mucinoso intersticial junto à pelve, moderada anisocariose e tumefação das células dos ductos coletores, aumento do filtrado glomerular.

Búfala 3 (SAP 35241)

- **Bexiga:** projeções papiliformes multifocais revestidas por urotélio neoplásico com diferentes graus de desorganização e atipia, variando de papilomas e carcinomas papilares de baixo e alto grau. Havia raras áreas de invasão de carcinomas papilares alto grau na lâmina própria. Carcinomas uroteliais não papilares invasivos, eram representados pela variante histológica microcística e por células neoplásicas arrançadas em finas trabéculas que por vezes, também continham microscistos e invadiam lâmina própria e a camada muscular externa. Notavam-se poucos focos de carcinoma in situ, frequentemente próximos as áreas de invasão. Displasia urotelial discreta, moderada ou acentuada com pouca ou nenhuma inflamação adjacente também foram observadas. Áreas de moderada displasia e atipia que mantinham a diferenciação das células basais, intermediárias e superficiais associadas a infiltrado inflamatório moderado ou acentuado (cistite) foram interpretadas como atipia e displasia reativas. Havia extenso foco de metaplasia escamosa com paraqueratose acentuada do urotélio e, em alguns focos, notavam-se células moderadamente pleomórficas que invadiam discretamente a lâmina própria, além de também estarem presentes em linfáticos. Focos de metaplasia intestinal do urotélio também foram vistos. Proliferações uroteliais benignas eram representadas por hiperplasia plana e papilar que frequentemente invaginavam para a lâmina própria e formavam ninhos de Brunn. Cistite glandular, cistite glandular com diferenciação intestinal, cistite cística e extensos focos de ulceração e erosão do urotélio eram visualizados. Em meio a lesão ulcerativa observavam-se miríades bacterianas e a lâmina própria subjacente à úlcera, continha infiltrado inflamatório piogranulomatoso, além de fibrose e proliferação vascular. A lâmina própria apresentava focos de fibrose e diferenciação mixoide. A túnica média e em menor grau a adventícia de algumas artérias musculares apresentavam diferenciação mixoide. Infiltrado inflamatório linfoplasmocítico com poucos histiócitos, ocorria em formação de folículos (cistite folicular), em projeções polipoides da mucosa (cistite polipoide) e por vezes, em banda focalmente extensa, transpondo o epitélio. Além dessas alterações inflamatórias, também

foram observados focos de proliferação vascular típica e atípica, além de grandes focos de hemangiossarcoma que variava de bem a pouco diferenciado infiltrando e expandindo acentuadamente a mucosa e camadas mais profundas da bexiga. Hemorragia e necrose eram frequentes no estroma ou ao redor dos hemangiossarcomas.

- **Ureter:** acentuada fibrose da parede acompanhada de proliferação fibroblástica/mixoide por entre os feixes da camada muscular; produção de substância eosinofílica/amiloide like. Marcada atipia de fibroblasto, nas paredes das arteríolas; leve infiltrado inflamatório linfoplasmocitário macrofágico com raros eosinófilos subepitelial difuso. Focos de displasia do epitélio urotelial grau II e III; e proliferação perivascular de vasos, poucos eosinófilos; hiperplasia além da atipia da arteríola, edema/secreção mixoide na adventícia.
- **Rim:** há glomerulonefrite segmentar discreta a moderada, necrose, degeneração e hiperplasia com atipia de células tubulares (regeneração tubular), principalmente de ductos coletores, nestes, nota-se revestimento por células grandes e atípicas com megacariose acentuada e figuras de mitose atípicas (tripolares). Na pelve nota-se estroma com aspecto moderadamente edematoso e diferenciação mixoide intimomedial em artéria muscular, além de proliferação papiliforme epitelial tipo papiloma e áreas de degeneração e necrose do urotélio com infiltrado neutrocitário.

ANEXO I. Questionário

Proprietário: _____ Propriedade: _____ Localidade/Município: _____
Telefone: _____ Quantidade de Animais: Bov.: _____ Equ.: _____ Cap.: _____ Ov.: _____ Bub.: _____ No. de vacas: _____
Volume de leite/dia: _____ Finalidade da Prod. Leite: () Queijo próprio () Cooperativa / Laticínio () Outro: _____
Gado de Corte: _____ No. de Matrizes: _____

Parte I - Epidemiologia

1. Já observou bovinos (e outros animais) ingerindo espontaneamente a samambaia? () Sim () Não
2. Com que frequência? () Diariamente () De vez em quando
3. Qual o número de animais que ingerem a planta? _____
4. Qual a categoria de animal(s) que ingere a planta? _____
5. Em que época do ano? () Seca () Águas () Ano todo
6. Você acredita que eles ingerem a planta por: () Vício () Fome
7. A que você atribui a hematúria? (Qual a causa?) _____
8. Dieta - Qualidade _____ e Quantidade: _____
9. Há escassez de alimento em determinada época do ano? _____
10. Grau de invasividade: _____
11. Roça os pastos todos os anos? () Sim () Não

Parte II - HEB

12. Tem observado vacas que urina avermelhado (sangue)? () Sim () Não
13. Que porcentagem do rebanho? _____
14. Qual a classe de animais afetados? _____
15. Por quanto tempo os animais urinam sangue? _____
16. Quantos animais são descartados por ano, por esse motivo? _____
17. Quantos bovinos morrem urinando sangue? _____
18. Qual a idade que os animais começam a urinar sangue? _____
19. É intermitente? () Sim () Não
20. Vai para o abate? () Sim () Não
21. Por que você acha que as vacas urinam sangue? _____

Parte III - CVDS

22. Há animais que tosse? () Sim () Não
23. Regurgitam o alimento pelas narinas? () Sim () Não
24. Tem dificuldade de engolir? () Sim () Não
25. Apresentam timpanismo intermitente? () Sim () Não
26. A partir de que idade isso acontece? _____
27. Qual a classe de animais afetados? _____
28. Esses animais também urinam sangue? () Sim () Não
29. O que acontece com esses animais? _____
30. Já ouviu falar em "favo da goela"? () Sim () Não
31. A que atribui essa doença? _____

Parte IV - DH

32. Já ouviu animais suando sangue? () Sim () Não
33. Em que época do ano? _____
34. Foi depois de queimadas de pasto? _____
35. Qual a porcentagem de animais afetados? _____
36. Desses, quantos morreram? _____
37. O que você acha que é essa doença? _____
38. Usa vacina contra pasteurelose? () Sim () Não

Parte V - Diagnóstico diferencial

39. Tem ocorrência de picada de cobra nos animais? () Sim () Não
 40. Qual a frequência? _____
 41. Dos animais afetados pela picada de cobra quantos morrem? _____
 42. Quais são os sinais clínicos? _____
- Demais observações
- _____
- _____
- _____
- _____

*Adaptado de Galvão et al. 2012.

ANEXO J. Perfil - Carlos Hubinger Tokarnia (*in memoriam*)

Nascido na Cidade do Rio de Janeiro em 24 de março de 1929, o Prof. Carlos Antonio Maria Hubinger Tokarnia formando em 1952, na Escola Nacional de Veterinária, hoje Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro(UFRRJ), e faleceu em 6 de julho de 2015, no RJ. Ainda na graduação, interessou-se pela Patologia Veterinária, sob a decisiva orientação do Prof. Paulo Dacorso Filho. Uma vez formado, foi contratado como patologista do antigo Instituto de Biologia Animal (IBA), na área conhecida como Km 47, RJ. Em 1953 fez sua primeira viagem de estudos ao Nordeste do país, para estudar enfermidades de etiologia desconhecida. Em 1955, sua carreira foi definitivamente influenciada pela resolução de estagiar, como bolsista da FAO, no Ondesterpoort Veterinary Research Institute, África do Sul, onde permaneceu por cerca de um ano.

De volta ao Brasil, em 1956, tomou outra decisão crucial: aceitou trabalhar com uma bolsa de pesquisa de valor reduzido e mudou-se para a área rural no Nordeste do país, à época uma região verdadeiramente inóspita, a fim de investigar/caracterizar as enfermidades de bovinos que lá ocorriam. De início, uma vez que não havia outra possibilidade, os deslocamentos, de fazenda em fazenda, eram feitos a cavalo. A destacar-se também a parceria científica com o Dr. Jürgen Döbereiner e o constante e valioso auxílio do Dr. Camillo Canella, lendário clínico, que colaboraram decisivamente nas descobertas de muitas das enfermidades descritas pelo Prof. Tokarnia.

Em 1959, iniciou suas atividades de ensino, quando tornar-se assistente do Prof. Jeferson Andrade dos Santos, na Cadeira de Anatomia Patológica da Universidade Federal Fluminense(UFF). Em 1965 defendeu tese de Livre Docência na Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Sempre manteve suas atividades de pesquisa no IBA (Instituto de Biologia Animal – RJ), mais tarde absorvido pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA).

Passou a colaborar nos cursos. A partir de 1974, no de Pós-Graduação da UFRRJ, para os quais criou as disciplinas de “Plantas Tóxicas” e de “Deficiências Minerais e Doenças Metabólicas”. Em 1978, transferiu-se oficialmente da UFF para a UFRRJ. Nos cursos de Pós-Graduação de várias outras universidades brasileiras ministrou, a título de colaboração, as mesmas disciplinas. Mesmo aposentado compulsoriamente, aos 70 anos, não alterou suas atividades de ensino, extensão e pesquisa e permaneceu pesquisador do Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), desde a sua criação, em 1953.

O grupo de pesquisa por ele liderado **descreveu as enfermidades espontâneas**, em ruminantes, associadas à ingestão das seguintes plantas: *Cestrum laevigatum*, *Tetrapteryx multiglandulosa*, *T. acutifolia*, *Mascagnia rigida*, *M. pubiflora*, *M. affrigida*, *M. elegans*, *Thiloa glaucocarpa*, *Polygala klotzschii*, *Arrabidaea japurensis*, *Piptadenia macrocarpa*, *P. viridiflora*, *Manihot glaziovii*, *M. piauyensis*, *Ditaxis desertorum*, *Palicourea juruana*, *P. grandiflora*, *P. aeneofusca*, *Lantana tiliaefolia*, *Baccharis megapotamica var. weirii*, *Ipomoea carnea var. fistulosa* e *I. asarifolia*. Diversas outras doenças decorrentes de intoxicação por plantas, já estudadas em outros países, foram por eles caracterizadas no Brasil, entre elas, as intoxicações por *Solanum malacoxylon*, *Lantana camara*, *Baccharis coridifolia*, *Ricinus communis*. O seu grupo de pesquisa esclareceu a etiologia de diversas condições associadas às deficiência de cobalto, cobre, fósforo e sódio, além de ter descrito, pela primeira vez no Brasil, o botulismo epizoótico secundário à deficiência de fósforo. Foi o Prof. Tokarnia quem estabeleceu, em 1978, **o diagnóstico de Peste Suína Africana no Brasil**. Em viagens de estudo, foi a todos os 24 Estados e também aos territórios brasileiros.

No livro "Plantas Tóxicas do Brasil" (2000, 2012), o Prof. Tokarnia reuniu o resultado de suas pesquisas e o que de mais importante existe em relação ao tema no Brasil. O livro "Plantas Tóxicas da Amazônia" (1976), editado com base exclusiva nos seus estudos, foi

reeditado em 2007. A primeira edição do livro "Deficiências Minerais em Animais de Produção no Brasil" foi publicada em 2010.

Além do profundo conhecimento, da persistência, do rigor com a informação científica, da facilidade inata na identificação de plantas, Tokarnia também desenvolveu rara capacidade de organização, que lhe permitia, informar, por exemplo, que fazenda visitara em um determinado dia da semana do ano de 1953, quem e o que disse cada pessoa inquirida durante a colheita dos históricos da doença à época estudada, tão logo consultasse seus cadernos de viagem, mantidos desde o início da década de 50.

É difícil precisar, em toda a sua extensão, a inestimável contribuição que o Prof. Tokarnia trouxe à ciência veterinária brasileira e impacto positivo do seu trabalho na pecuária do país. As plantas tóxicas encontram-se entre as principais causas de morte de bovinos adultos no país. Estimativas comprovadas através de amostragens em necropsias indicam que, pelo menos, 1.000.000 (0,5 % do rebanho) de bovinos morrem anualmente intoxicados por planta no Brasil, enquanto os prejuízos causados pelas deficiências minerais são incalculáveis. Uma parte significativa do que hoje se sabe sobre as enfermidades causadas por essas duas condições no Brasil deve-se aos seus esforços. A importância de seu trabalho fundamenta-se no pioneirismo, em áreas cujo conhecimento científico era, até então, praticamente nulo. Também o volume e a exatidão das informações por ele produzidas é impressionante. Foram mais de 200 trabalhos científicos publicados em revistas nacionais e estrangeiras. Todos que o conheceram, porém, são unânimes em apontar as características mais marcantes de sua personalidade, aliás, também as da maioria dos grandes homens da ciência: *simplicidade e humildade*.

(Atualização e resumo do texto original publicado em inglês, escrito por Paulo Vargas Peixoto, incluído como homenagem no livro Poisoning by Plants, Mycotoxins and related Toxins, a pedido da Comissão Organizadora do ISOPP (International Symposium On Poisonous Plants), realizado em João Pessoa, PB, 2009)

Anexo L. Panfleto destinado aos produtores rurais.

Enfermidades em búfalos e bovinos causadas por samambaia no Estado de São Paulo

Juliana F. Rocha¹, Bartolomeu B. N. Santos¹, Alexandre Galvão², Ticiane N. França³, Luís Armando C. Brust⁴, David Driemeier⁵, Aldo Gava⁶, Paulo V. Peixoto³



¹Alunos do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR-465, Km 7, Seropédica, RJ 23897000, Brasil. E-mail: jurocha.me@gmail.com, bartolomeu.neves@gmail.com

²Médico Veterinário Autônomo, Quatis, RJ e Professor do Centro Universitário Barra Mansa (UBM), Rua Ver. Pinho de Carvalho, Centro, Barra Mansa, RJ, 27330-550, Brasil. E-mail: tandyvet@gmail.com

³Professores do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR-465, Km 7, Seropédica, RJ 23897000, Brasil. E-mail: ticianafra19@gmail.com, pfpeixoto19@gmail.com

⁴Professor no Centro de Ensino Superior de Valença (CESVA/FAA), Rua Sargento Vitor Hugo, Fátima, Valença, RJ, 27600-000, Brasil. E-mail: armandobrust@gmail.com

⁵Professor da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, Porto Alegre, RS, 91540-000, Brasil. E-mail: ddrimeier@gmail.com

⁶Professor da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Av. Luiz de Camões, Lages, SC, 88520-000, Brasil. E-mail: aldo.gava@udesc.br

Legendas das figuras da capa: Bubalino em pastagem invadida por *Pteridium arachnoideum* (samambaia). Búfala urinando sangue (hematúria enzoótica). Bexiga de búfala com tumores diversos devido ao consumo de samambaia.

O que é Samambaia?

Samambaia é um termo popular dado a diversas plantas do grupo das Pteridófitas; a imensa maioria delas não é tóxica e muitas até são ornamentais. Portanto, *intoxicação por samambaia*, refere-se às doenças causadas pela ingestão de “samambaia do campo” (*Pteridium* spp., plantas cosmopolitas, distribuídas amplamente no Brasil e no mundo) - e não às samambaias de jardim. No Brasil existem duas espécies principais comprovadamente tóxicas para bovinos: ***Pteridium arachnoideum***, que se desenvolve, principalmente, como invasora em pastagens de regiões frias e de boa pluviosidade, com solos ácidos e bem drenados - sobretudo em áreas degradadas - (Fig. 1 e 2) e ***P. caudatum*** que tem sido observada em planícies de clima quente, como é o caso da Amazônia (Tokarnia et al. 2012).

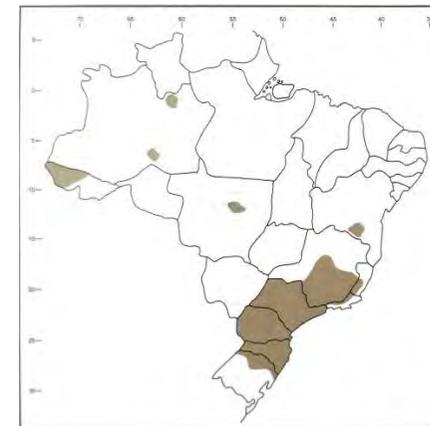


Fig. 1. Distribuição de *Pteridium* spp. no Brasil (Fonte: Livro Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção - Tokarnia et al. 2012).



Fig. 2. *Pteridium arachnoideum* (Passa Vinte – MG). Detalhe da figura: maior aumento da folha de *P. arachnoideum*.

Quais doenças estão associadas ao consumo dessa planta?

A samambaia tem como princípio tóxico um ptaquilosídeo de ação radiomimética. Ou seja, essa substância tem o mesmo efeito gerado pela exposição à radiação, como por exemplo causar câncer.

Por isso, na dependência do tempo de ingestão e da quantidade de samambaia ingerida, em bovinos, o consumo pode levar à três quadros clínicos (doenças) diferentes:

- 1) **Diátese Hemorrágica (DH)** – enfermidade que simula a súbita exposição à excessiva quantidade de radiação – ocorre quando os bovinos ingerem quantidades diárias iguais ou maiores que 10g/kg/dia de samambaia, durante algumas semanas a poucos meses (para um bovino de 400kg, por exemplo, pelo menos 4kg/dia durante 3-4 semanas teriam que ser ingeridos para surgir esse problema). É uma síndrome hemorrágica aguda, *febril*, na qual o animal sangra por qualquer ferida, pela pele e mucosas (essa forma ainda não foi descrita em búfalos). No

campo, alguns produtores dizem que o animal "sua sangue", já que pode porejar sangue pela pele íntegra.

- 2) **Hematúria Enzoótica (HE)** - doença crônica caracterizada pela eliminação de urina com sangue (bovinos e búfalos que "urinam sangue" – Fig. 3), *decorrente de tumores na bexiga* (Fig. 4). É a forma mais frequente de intoxicação por samambaia na maioria das regiões do Brasil.
- 3) **Neoplasias do Trato Alimentar Superior (TAS)**- forma crônica de "intoxicação" descoberta no Brasil pelos patologistas Carlos Tokarnia e Jürgen Döbereiner, por eles denominada de Carcinomas das Vias Digestivas Superiores (CVDS) – que consiste, basicamente, no desenvolvimento de tumores benignos e malignos na base da língua, faringe, laringe, esôfago (Fig. 5) e entrada do rúmen (Fig. 6). Até então só haviam sido descritos carcinomas epidermóides e papilomas.



Fig. 3. A. Bovino urinando sangue - hematúria enzoótica; B. Búfala urinando sangue - hematúria enzoótica (São José do Barreiro – SP).

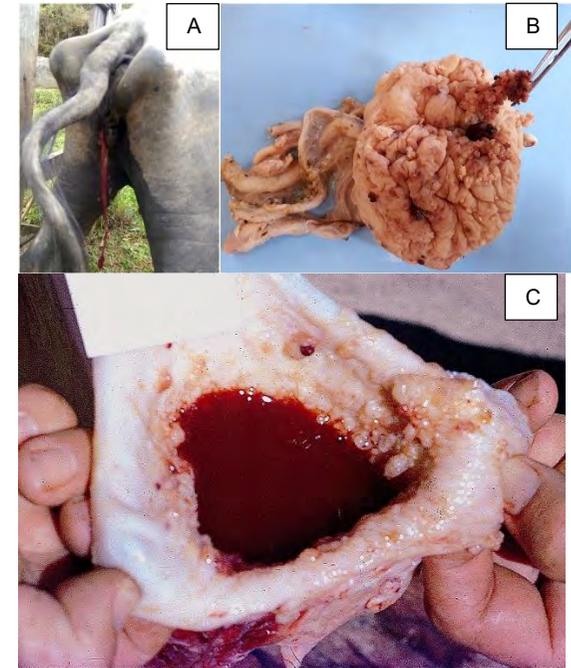


Fig. 4. A. Búfala urinando sangue - Hematúria Enzoótica (HE); B. Bexiga de búfala com tumores diversos - a causa da hematúria (São José do Barreiro – SP). C. Bexiga de bovino com HE, contendo urina sanguinolenta e tumores (Rio do Sul, SC).

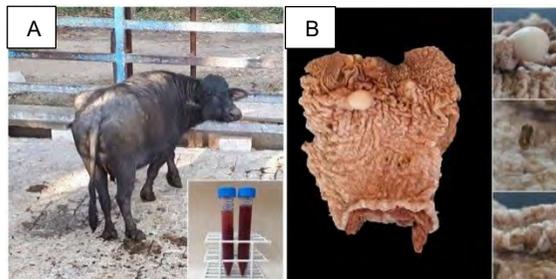


Fig. 5. A. Búfala em excelente estado nutricional, gestante, mas com Hematúria Enzoótica e Neoplasias do Trato Alimentar Superior (TAS). Detalhe da foto: urina coletada dessa búfala em um tubo. **B.** Segmento de esôfago dessa búfala com Neoplasias do TAS. Detalhe da foto: lesões em maior aumento (fibroma, corno-cutâneo like e úlcera).

Essas três formas da "intoxicação" por samambaia têm sido bem estudadas em bovinos no Brasil, contudo, até o momento, não havia relatos da HE e Neoplasias do TAS em búfalos. A partir de estudos desenvolvidos no município de São José do Barreiro (SP), mais especificamente na região conhecida como Sertão da Onça, foi possível comprovar a existência dessas duas formas em búfalos (Rocha et al. 2020, dados não publicados).

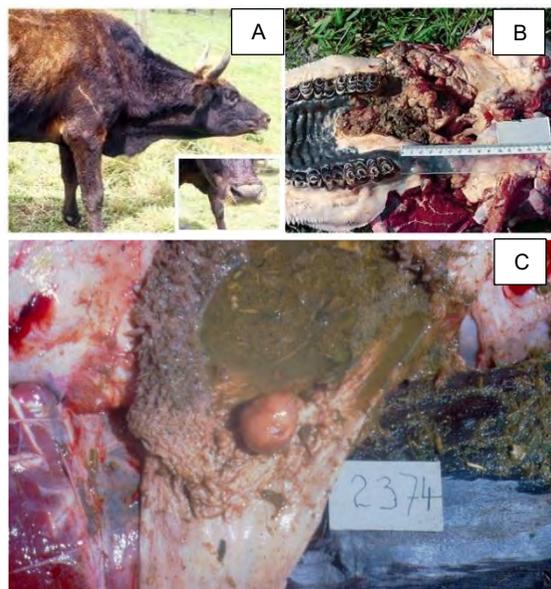


Fig. 6. A. Bovino com Neoplasias do Trato Alimentar Superior (TAS) com tosse. Detalhe da foto: Resíduo de conteúdo ruminal nas narinas após regurgitação (Lages, SC). **B.** Tumor no TAS (palato) de bovino mantido em região invadida por samambaia. (Fonte: Livro Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção - Tokarnia et al. 2012). **C.** Tumor no TAS (cárdia) de bovino mantido em região invadida por samambaia.

Qual a diferença da HE e das neoplasias do TAS entre bovinos e bubalinos?

No que se refere às lesões, basicamente, as doenças seriam as mesmas, todavia as manifestações clínicas podem passar despercebidas nos búfalos, mesmo com lesões bem estabelecidas. Também, existem indícios que os búfalos poderiam ser mais resistentes que os bovinos em relação à toxidez da planta. De fato, os pequenos produtores da área onde a HE e neoplasias do TAS foram detectadas, passaram a introduzir búfalos, como alternativa, com base na premissa de que estes seriam mais resistentes à ingestão de samambaia que o gado

bovino. Por outro lado, embora essa hipótese seja possível, ainda não existem estudos científicos que a comprovem.

Por que muitas pessoas, no meio rural, não acreditam que a "samambaia" seja a causa – em bovinos e em búfalos - da Hematúria Enzoótica (HE), Neoplasias do Trato Alimentar Superior (TAS)?

Embora a toxidez da samambaia seja conhecida desde 1893 (Penberthy 1893), só a partir da década de 1940 foram realizados estudos a respeito da toxicidade dessa planta para animais de fazenda e de laboratório (França et al. 2002). Desde então, em numerosas pesquisas, relata-se a ocorrência da intoxicação por samambaia no Brasil e nas mais diversas partes do mundo. Muitos produtores, porém, desconhecem ou não acreditam que essa planta seja a causa dessas formas de intoxicação em bovinos.

Galvão et al. (2012) realizaram um levantamento através de questionários aplicados em 73 propriedades rurais dedicadas à bovinocultura, com presença de "samambaia", em municípios dos Estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais e São Paulo. Esse estudo confirmou e demonstrou que boa parte dos produtores tem diferentes opiniões sobre a causa da HE, das Neoplasias do TAS e da DH; veja os resultados abaixo:

- Em relação à **causa da Hematúria Enzoótica (HE)**: 34 (47%) proprietários disseram que a HE só apareceu depois da introdução de *Brachiaria* na pastagem (isso ocorreu a partir do terço inicial dos anos 1970); 15 (20%) citaram que era a "samambaia" a causa; 8 (11%) que era acidez ou alumínio no solo; e o restante (22%) citam como causas intoxicação por água fria (2), por "água rasa" (1), ingestão

de pinhão (1), verminose (1), fraqueza do animal (1), hereditariedade (2), "rompimento da veia da bexiga" (1), câncer (1) e o restante não sabia a causa (6).

- Sobre as **Neoplasias do Trato Alimentar Superior (TAS)**: 57 (78%) "conheciam" alguns sinais clínicos e 16 (22%) desconheciam a doença, mas somente 5 (8,1%) dos que conheciam a doença já haviam "associado" esta doença com HE. Dos 57 (78%) proprietários que conheciam o problema, 30 (53%) não sabiam a **causa**, 15 (26%) acreditavam ser algum tipo de câncer, 4 (7%) disseram tratar-se "figueira da goela" ou "figueira da boca do bucho", e 8 (14%) incriminaram deficiência mineral, pasto ruim e/ou "samambaia".
- A respeito da **Diátese Hemorrágica (DH)**, dos 73 proprietários, 37 (51%) não conheciam o problema. Dos 36 (49%) que já viram ou tiveram este tipo de manifestação em sua propriedade, 21 (59%) não sabiam a **causa**, 9 (25%) acreditavam que fosse pasteurelose (5 desses produtores utilizavam vacina contra pasteurelose), 3 (8%) disseram que seria picada de cobra e somente 3 (8%) afirmaram que a causa seria a "samambaia".

Essa associação entre HE e consumo de *Brachiaria* é muito comum e também foi relatada pelos criadores de búfalos de São José do Barreiro, SP (Rocha et al. 2020, dados não publicados). É bom ficar claro para os produtores que, apesar de as braquiárias (*Brachiaria decumbens* e *B. brizantha*) eventualmente estarem associadas à maior ingestão de *Pteridium* (ver adiante), bem como a surtos de fotossensibilização hepatógena ("requeima" e "sapeco"), essas plantas não causam HE, nem neoplasias do TAS, nem DH e são extremamente

necessárias à pecuária extensiva, uma vez que permitem aproveitamento das extensas áreas com baixa fertilidade do solo/deficiência de fósforo no Brasil.

Dessa forma – repetimos - o **consumo de *Brachiaria* spp. por bovinos e bubalinos não leva ao desenvolvimento de HE, Neoplasias do TAS e DH**. A única relação que existe entre *Brachiaria* e o aparecimento dessas enfermidades no rebanho, é o fato de essa gramínea não apresentar a mesma palatabilidade que o capim-gordura (*Melinis minutiflora*), que predominava em áreas de pecuária leiteira na região Sudeste, antes da introdução de *Brachiaria*. Além disso, houve subdivisão das propriedades rurais, com progressivo aumento do número de bovinos por unidade de área; conseqüentemente, os animais não têm outra alternativa, a não ser começar a ingerir ou aumentar a ingestão de *Pteridium*, dependendo do pasto em que se encontrem (Galvão et al. 2012).

É fundamental que os produtores sejam informados que a **samambaia do campo é a causa real dessas enfermidades**, para que as adequadas medidas de controle e profilaxia sejam implementadas. Produtores em áreas pequenas e com poucos recursos, todavia, tendem a não aceitar esse fato, uma vez que, usualmente, essas medidas estão além das suas possibilidades financeiras (Galvão et al. 2012). Preferem acreditar que a causa dessas formas de intoxicação seja outra, talvez pela dificuldade de combatê-la ou porque desejariam um medicamento de simples aplicação para resolver os problemas gerados pela samambaia.

Diagnóstico diferencial: (como diferenciar as enfermidades causadas por samambaia de outras doenças?)

Abaixo estão alguns exemplos de diagnóstico diferencial para cada quadro clínico clássico da intoxicação por samambaia:

Diátese Hemorrágica (DH): *intoxicação acidental por cumarínicos* (tipo de veneno de rato que mata por hemorragia); acidente ofídico por *Bothrops* (*picada de algumas cobras*, por exemplo jararaca, jararacuçu e urutu) e outras substâncias que causem hemorragia (resíduos de indústria química com efeito radiomimético), septicemias (o quadro de pasteurelose septicêmica, ao contrário do que muitos acreditam, é muito raro, se é que já foi descrito no Brasil).

Hematúria Enzoótica (HE): há que dar-se especial atenção na diferenciação entre hematúria e outras condições, pelas quais os animais urinam de cor avermelhada, ou ainda cor de "coca-cola".

Doenças que causam hemoglobinúria e metahemoglobinúria, por exemplo, cursam com eliminação de urina claramente avermelhada, mas não há sangue e sim hemoglobina (é uma proteína derivada do rompimento de glóbulos vermelhos na corrente sanguínea) na urina. A cor pode ficar parecida, mas são duas situações diferentes. Como saber de qual se trata? Simples, basta colher urina do animal suspeito e deixar o frasco em repouso para sedimentar, por 1 ou 2 horas (Fig. 7), se há sedimentação é hematúria.

Neoplasias do Trato Alimentar Superior (TAS): essa forma, por provocar emagrecimento progressivo até a morte, deve ser diferenciada de outras doenças caquetizantes, como tuberculose; actinobacilose ou que causam engasgos por ossos

ou corpos estranhos, com tosse evoluindo para caquexia.

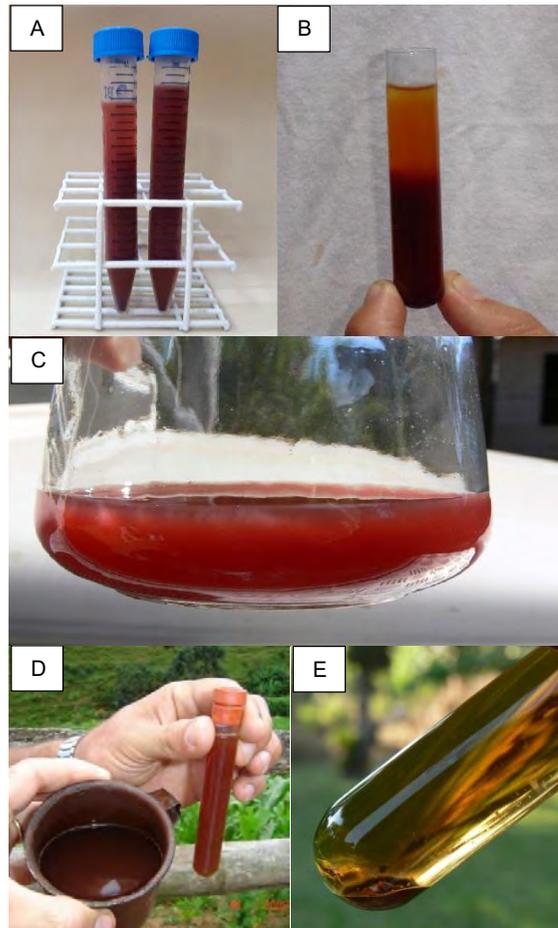


Fig. 7. A. Urina avermelhada colhida de búfala com Hematúria Enzoótica (HE); início da sedimentação. B. Urina avermelhada colhida de bovino com HE, parcialmente sedimentada após ficar em repouso. C e D. Urina avermelhada colhida de bovino com HE, início da sedimentação. E. Urina colhida de bovino com HE, sedimentada após centrifugação.

Como prevenir e controlar a intoxicação por "samambaia"?

Quando se fala em doenças causadas pela ingestão de "samambaia", o melhor é trabalhar com a PREVENÇÃO, pois para as três doenças causadas por essa planta, não existe um tratamento totalmente eficaz e curativo.

Para a forma aguda (DH), por tratar-se de uma condição hemorrágica, preconizam-se transfusões de sangue (pouco viáveis a campo) e corticóides, além de antibióticos (para evitar infecções secundárias). O tratamento, em geral, é pouco efetivo e só surtiria efeito quando se iniciado precocemente. No passado, falava do uso de sulfato de protamina no tratamento (Tokarnia et al. 2012), porém não é um fármaco de fácil acesso e utilização na medicina veterinária.

Infelizmente, uma vez desenvolvidas as formas crônicas da doença pelo consumo da planta, não existem nem mesmo alternativas efetivas, como transferir os animais para uma área sem a presença de "samambaia", como pensava-se inicialmente. Galvão et al. (2012) demonstraram que a grande maioria (mais de 90%) dos animais afetados por Hematúria Enzoótica Bovina (HEB) morre em menos de dois anos, mesmo após retirados dos pastos invadidos por *Pteridium* sp. Além disso, essa transferência dos bovinos com HEB para regiões livres da planta é, em geral, economicamente inviável. O que muitos produtores fazem é abater os animais quando não estão muito magros ou "passam o problema", ou seja, quando um animal começa a "urinar sangue" (sinal clínico da HE) acabam vendendo para outro criador de áreas livres de "samambaia" com o argumento que não irão mais "urinar sangue", devido à ausência da planta na propriedade.

Por isso, os esforços devem ser concentrados em prevenir que ocorra o consumo da samambaia. Mas como fazer isso, nas propriedades que tem suas pastagens severamente invadidas por essas plantas? Uma alternativa seria fazer um planejamento estratégico de fornecimento de alimentos alternativos (forragem ajuda muito) para que os animais não sofram carência nutricional e acabem consumindo *Pteridium*. Formação e reserva de pastagens com gramíneas de qualidade; capineiras; canaviais; silagem (ex. milho, sorgo, capim, cana); cevada etc, são bons exemplos de maneiras de suplementar os animais, principalmente na época seca do ano, quando diminui a oferta de forrageiras. Também deve-se pensar em alternativas viáveis e eficientes para controlar o crescimento e desenvolvimento da samambaia, o que não é uma tarefa fácil.

Em 2018, a Embrapa publicou um comunicado técnico (Oliveira et al. 2018) que reúne diversas publicações sobre o assunto, e traz algumas alternativas de controle da planta, algumas de fácil execução e outras de custo mais elevada, que encontram-se em resumo abaixo:

- Cuidados intensivos com o solo e com as pastagens: aração profunda, gradagem e o corte das plantas (duas a três vezes ao ano), calagens e adubações corretas; **Obs.:** alguns experimentos foram realizados e notaram que a calagem, por si só, não surte um bom efeito no controle sobre a planta. A simples aplicação de até 1kg/m² de carbonato de cálcio – no Município de Cinha, SP – não resultou em controle da planta (Peixoto & França, dados não publicados 2003).
- Uso de herbicidas associados ao corte, duas a três vezes ao ano. Os herbicidas

registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para o controle de samambaia: mistura formulada de 2,4-D + Picloram (seletiva para pastagens); Glufosinato de Amônio e Glyphosate (produtos não seletivos para pastagens e as aplicações devem ser necessariamente dirigidas sobre as plantas a fim de não prejudicar a pastagem circundante). Obs.: em outros países existem herbicidas seletivos para samambaia (ex. Azulam®, Asulox®), porém no Brasil não estão liberados o uso.

- Proteger contra o fogo as áreas de pastagens invadidas com samambaias, pois a ocorrência de incêndios favorece o estabelecimento das plantas e a brotação;
- Implementar cultivos anuais (ex.: milho, soja, feijão) e árvores integrados com pasto, exemplo, sistema de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta (ILPF);
- Reformar as pastagens, utilizando espécies forrageiras que cobrem rapidamente o solo e são competitivas (ex.: *Brachiaria decumbens* e a *Setaria* sp.).

Intervenções esporádicas e pontuais no controle de samambaia nem sempre surtem bons resultados e requerem planejamento de longo prazo. As medidas de controle e profilaxia a serem tomadas, devem ser adaptadas a cada situação, isto é, a cada propriedade, uma vez que a alimentação e o manejo nunca são iguais entre os estabelecimentos.

Considerações finais

A "samambaia" tem um papel negativo muito importante na pecuária nacional, pois sua presença nas pastagens, invadindo, por vezes, 60 a 90% da área total da propriedade, leva a graves prejuízos econômicos e *problemas sociais*.

De fato, em regiões severamente invadidas por *Pteridium* spp., os prejuízos econômicos são muito significativos, em especial, na pecuária de leite (Galvão et al. 2012). Em algumas propriedades até 90% das vacas de leite "urinam sangue" (França et al. 2002). O problema é tão sério que, nessas áreas muito invadidas, os pequenos produtores, por não suportarem os prejuízos, terminam por vender suas propriedades (Fig. 8) e migrar para a periferia de cidades pequenas e médias (Galvão e Peixoto, dados não publicados).

Seria desejável que as autoridades sanitárias, ligadas à área de Pecuária, estudassem maneiras de socorrer e auxiliar esses produtores em dificuldades no enfrentamento aos sérios problemas econômicos gerados pela ingestão de "samambaia do campo". Linhas de crédito e auxílio técnico adequado talvez pudessem ser implantados para minimizar os prejuízos que têm redundado na migração compulsiva para as cidades próximas.



Fig. 8. Propriedade com pastagem formada de *Brachiaria* e invadida por *Pteridium arachnoideum*, com placa de vende-se (São José do Barreiro – SP).

In memoriam:

Esse folheto, pelo conjunto de informações apresentadas de forma simples e objetiva, pode ser considerado uma tentativa de homenagear o Prof. Carlos Hubinger Tokarnia e o Dr. Jürgen Döbereiner, cientistas que dedicaram suas vidas ao diagnóstico e à pesquisa veterinários.

Prof. Carlos Tokarnia - Perfil

Nascido na Cidade do Rio de Janeiro em 24 de março de 1929, o Prof. Carlos Antonio Maria Hubinger Tokarnia formando em 1952, na Escola Nacional de Veterinária, hoje Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), e faleceu em 6 de julho de 2015, no RJ.

Ainda na graduação, interessou-se pela Patologia Veterinária, sob a decisiva orientação do Prof. Paulo Dacorso Filho. Uma vez formado, foi contratado como patologista do antigo Instituto de Biologia Animal (IBA), na área conhecida como Km 47, RJ. Em 1953 fez sua primeira viagem de estudos ao Nordeste do país, para estudar enfermidades de etiologia desconhecida. Em 1955, sua carreira foi definitivamente influenciada pela resolução de estagiar, como bolsista da FAO, no Ondesterpoort Veterinary Research Institute, África do Sul, onde permaneceu por cerca de um ano.

De volta ao Brasil, em 1956, tomou outra decisão crucial: aceitou trabalhar com uma bolsa de pesquisa de valor reduzido e mudou-se para a área rural no Nordeste do país, à época uma região verdadeiramente inóspita, a fim de investigar/caracterizar as enfermidades de bovinos que lá ocorriam. De início, uma vez que não havia outra possibilidade, os deslocamentos, de fazenda em fazenda, eram feitos a cavalo. A destacar-se também a parceria científica com o Dr. Jürgen Döbereiner e o constante e valioso auxílio do Dr. Camillo Canella, lendário clínico, que colaboraram decisivamente nas descobertas de muitas das enfermidades descritas pelo Prof. Tokarnia.

Em 1959, iniciou suas atividades de ensino, quando tornou-se assistente do Prof. Jeferson Andrade dos Santos, na Cadeira de Anatomia Patológica da Universidade Federal Fluminense (UFF). Em 1965 defendeu tese de Livre Docência na Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Sempre manteve suas atividades de pesquisa no IBA (Instituto de Biologia Animal – RJ), mais tarde absorvido pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA).

Passou a colaborar nos cursos. A partir de 1974, no de Pós-Graduação da UFRRJ, para os quais criou as disciplinas de "Plantas Tóxicas" e de "Deficiências Mineralis e Doenças Metabólicas". Em 1978, transferiu-se oficialmente da UFF para a UFRRJ. Nos cursos de Pós-Graduação de várias outras universidades brasileiras ministrou, a título de colaboração, as mesmas disciplinas. Mesmo

aposentado compulsoriamente, aos 70 anos, não alterou suas atividades de ensino, extensão e pesquisa e permaneceu pesquisador do Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), desde a sua criação, em 1953.

O grupo de pesquisa por ele liderado **descreveu as enfermidades espontâneas**, em ruminantes, associadas à ingestão das seguintes plantas: *Cestrum laevigatum*, *Tetrapteryx multiglandulosa*, *T. acutifolia*, *Mascagnia rigida*, *M. pubiflora*, *M. aff rigida*, *M. elegans*, *Thiloua glaucocarpa*, *Polygala klotzschii*, *Arrabidaea japurensis*, *Piptadenia macrocarpa*, *P. viridiflora*, *Manihot glaziovii*, *M. piauynensis*, *Ditaxis desertorum*, *Palicourea juruana*, *P. grandiflora*, *P. aeneofusca*, *Lantana tiliaefolia*, *Baccharis megapota mica var. weirii*, *Ipomoea carnea var. fistulosa* e *I. asarifolia*. Diversas outras doenças decorrentes de intoxicação por plantas, já estudadas em outros países, foram por eles caracterizadas no Brasil, entre elas, as intoxicações por *Solanum malacoxylon*, *Lantana camara*, *Baccharis coridifolia*, *Ricinus communis*. O seu grupo de pesquisa esclareceu a etiologia de diversas condições associadas à deficiência de cobalto, cobre, fósforo e sódio, além de ter descrito, pela primeira vez no Brasil, o botulismo epizootico secundário à deficiência de fósforo. Foi o Prof. Tokarnia quem estabeleceu, em 1978, o **diagnóstico de Peste Suína Africana no Brasil**. Em viagens de estudo, foi a todos os 24 Estados e também aos territórios brasileiros.

No livro "Plantas Tóxicas do Brasil" (2000, 2012), o Prof. Tokarnia reuniu o resultado de suas pesquisas e o que de mais importante existe em relação ao tema no Brasil. O livro "Plantas Tóxicas da Amazônia" (1976), editado com base exclusiva nos seus estudos, foi reeditado em 2007. A primeira edição do livro "Deficiências Minerais em Animais de Produção no Brasil" foi publicada em 2010.

Além do profundo conhecimento, da persistência, do rigor com a informação científica, da facilidade inata na identificação de plantas, Tokarnia também desenvolveu rara capacidade de organização, que lhe permitia, informar, por exemplo, que fazenda visitara em um determinado dia da semana do ano de 1953, quem e o que disse cada pessoa inquirida durante a colheita dos históricos da doença à época estudada, tão logo consultasse seus cadernos de viagem, mantidos desde o início da década de 50.

É difícil precisar, em toda a sua extensão, a inestimável contribuição que o Prof. Tokarnia trouxe à ciência veterinária brasileira e impacto positivo do seu trabalho na pecuária do país. As plantas tóxicas encontram-se entre as principais causas de morte de bovinos adultos no país. Estimativas comprovadas através de amostragens em necropsias indicam que, pelo menos, 1.000.000 (0,5 % do rebanho) de bovinos morrem anualmente intoxicados por planta no Brasil, enquanto os prejuízos causados pelas deficiências minerais são incalculáveis. Uma parte significativa do que hoje se sabe sobre

as enfermidades causadas por essas duas condições no Brasil deve-se aos seus esforços. A importância de seu trabalho fundamenta-se no pioneirismo, em áreas cujo o conhecimento científico era, até então, praticamente nulo. Também o volume e a exatidão das informações por ele produzidas é impressionante. Foram mais de 200 trabalhos científicos publicados em revistas nacionais e estrangeiras.

Todos que o conheceram, porém, são unânimes em apontar as características mais marcantes de sua personalidade, aliás, também as da maioria dos grandes homens da ciência: *simplicidade e humildade*.

(Atualização e resumo do texto original publicado em inglês, escrito por Paulo Vargas Peixoto, incluído como homenagem no livro Poisoning by Plants, Mycotoxins and related Toxins, a pedido da Comissão Organizadora do ISOPP (International Symposium On Poisonous Plants), realizado em João Pessoa, PB, 2009)

Referências

França T.N., Tokarnia C.H. & Peixoto P.V. 2002. Enfermidades determinadas pelo princípio radiomimético de *Pteridium aquilinum* (Polipodiaceae). Pesq. Vet. Bras. 22(3):85-93.

Galvão A., Brito M.F., Aragão A.P., Yamasaki E.M., Peixoto P.V. & Tokarnia C.H. 2012. Sobrevivência/viabilidade de bovinos com Hematúria Enzoótica após transferência para região livre de *Pteridium arachnoideum*. Pesq. Vet. Bras. 32(9):887-902.

Oliveira V.M., Schwartsburd P.B., Brighenti A.M., D'oliveira P.S. & Miranda J.E.C. 2018. Plantas Tóxicas em Pastagens: Samambaia-do-campo (*Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum* (Kaulf.) Thomson, Família Dennstaedtiaceae). Embrapa Gado de Leite-Comunicado Técnico (INFOTECA-E).

Penberthy J. 1893. Vegetable poisoning (?) simulating anthrax in cattle. J. Comp. Pathol. Therap. 6:266-275.

Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção. 2ª ed. Helianthus, Rio de Janeiro, p.349-364.