

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

ALDA TRIVELLATO LANNA NETA

**SELÊNIO COMO SUPLEMENTO PARA BOVINOS INTOXICADOS
CRONICAMENTE POR *Pteridium* sp. NO ESPIRITO SANTO**

ALEGRE

2018

ALDA TRIVELLATO LANNA NETA

**SELÊNIO COMO SUPLEMENTO PARA BOVINOS INTOXICADOS
CRONICAMENTE POR *Pteridium* sp. NO ESPIRITO SANTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Diagnóstico e terapêutica das enfermidades clínico-cirúrgicas.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Louisiane de Carvalho Nunes

ALEGRE

2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial Sul, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)
Bibliotecário: Felício Gomes Corteletti – CRB-6 ES-000646/O

L243s Lanna Neta, Alda Trivellato 1993-
Selênio como suplemento para bovinos intoxicados cronicamente
por pteridium sp. no Espírito Santo / Alda Trivellato Lanna Neta. –
2018.
41 f. : il.

Orientador: Lousiane de Carvalho Nunes.
Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Bovino. 2. Hematúria. 3. Samambaia. 4. Medicina veterinária. I.
Nunes, Lousiane de Carvalho. II. Universidade Federal do Espírito
Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. III. Título.

CDU: 619

ALDA TRIVELLATO LANNA NETA

**SELÊNIO COMO SUPLEMENTO PARA BOVINOS INTOXICADOS
CRONICAMENTE POR *Pteridium* sp. NO ESPIRITO SANTO**

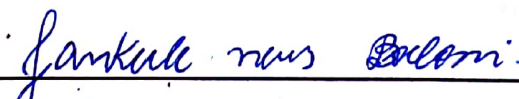
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Diagnóstico e terapêutica das enfermidades clínico-cirúrgicas

Aprovado em 09 de Janeiro de 2018

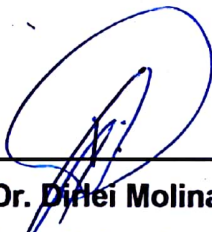
COMISSÃO EXAMIDORA



Profa. Dra. Louisiane de Carvalho Nunes
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientadora



Prof. Dra. Jankerle Neves Boeloni
Universidade Federal do Espírito Santo



Prof. Dr. Dirlei Molinari Donateli
Universidade Federal do Espírito Santo

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelos inúmeras realizações em minha vida.

À minha orientadora Louisiane de Carvalho Nunes, meu muito obrigada pelos dois anos de Mestrado! Pela confiança e aprendizado.

Aos meus pais Elysio Trivellato Lanna e Renilda Gomes Lanna exemplos de vida e maiores incentivadores, pela oportunidade de estudar, e principalmente pela paciência.

Às minhas irmãs, Elisa Gomes Lanna pelos inúmeros Abstracts altas horas da noite, e Carolina Gomes Lanna minha eterna secretária bilíngue.

As amigas no decorrer do mestrado, Julianne Almeida Rodrigues, Carol de Oliveira, Débora Pirovanni , obrigada pela paciência, ajuda, apoio, em resumo, obrigada pela amizade!

Aos colegas do laboratório de Patologia pelos bons dias e pela boa convivência.

Aos professores do programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias pelos ensinamentos compartilhados.

Ao Fundo de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES), pela concessão da bolsa.

RESUMO

TRIVELLATO LANNA NETA, ALDA. **Selênio como suplemento para bovinos intoxicados cronicamente por *Pteridium* sp. no Espírito Santo.** 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2017. *Pteridium* sp. (samambaia) é uma planta responsável por diversos quadros de intoxicação em animais e seres humanos. Em bovinos, um dos quadros comuns na região sul do Espírito Santo é a hematúria enzoótica bovina (HEB) que não possui tratamento. Assim, o objetivo do presente trabalho foi determinar os efeitos do selênio associado a vitamina E como suplemento em animais intoxicados cronicamente pelo *Pteridium* sp. Foram selecionados 21 animais intoxicados cronicamente pela planta e com HEB. Os animais foram examinados clinicamente e foi realizada a coleta da urina para a confirmação da hematúria. O delineamento experimental foi feito em quatro grupos divididos ao acaso (controle – soro fisiológico; tratamento 1 – 0,05 mg/Kg do suplemento; tratamento 2 – 0,10 mg/Kg do suplemento; tratamento 3 – 0,20 mg/Kg do suplemento). Foi feita a suplementação parenteral, via intramuscular, uma vez por semana, durante 13 semanas. Quinzenalmente os animais foram avaliados clinicamente e foram coletadas amostras de sangue para dosagem do selênio sérico. A análise de selênio foi feita nos momentos inicial, antes da suplementação com selênio (M0), após quatro semanas de tratamento (M4), após oito semanas (M8) e após 12 semanas (M12), pelo método de espectrofotometria de absorção atômica. Utilizou-se a análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey a 5%. Verificou-se que houve maior ganho de peso dos animais tratados com selênio em relação ao grupo controle e, também, entre os grupos. A intensidade da hematúria reduziu a partir da sexta semana e houve diferença significativa entre os grupos tratados e o grupo controle, assim como entre os grupos. Houve diferença significativa da concentração sérica de selênio entre os tratamentos. Assim, conclui-se que o selênio associado a vitamina E como suplemento para bovinos intoxicados cronicamente por *Pteridium* sp. no Espírito Santo com quadro de HEB teve efeito dose dependente sobre a melhora do quadro clínico causando redução da intensidade de hematúria e aumento do ganho de peso.

Palavras-chave: bovino; hematúria enzoótica; selenito de sódio.

ABSTRACT

TRIVELLATO LANNA NETA, ALDA. 2017. **Effects of selenium supplementation on animals chronically poisoned by *Pteridium* sp. in Espírito Santo.** Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2017. *Pteridium* sp. (bracken fern) is a plant responsible for several cases of intoxication in animals and humans. In bovines, one of the common conditions in the southern region of Espírito Santo is enzootic bovine hematuria (EBH) that doesn't have treatment. Thus, the aim of the present study was to determine the effects of selenium associated with vitamin E supplementation in animals chronically poisoned by *Pteridium* sp. Twenty-one animals chronically intoxicated by the plant and with EBH were selected. The animals were clinically examined to confirmation of hematuria and collection of urine. The experimental design was done in four randomized groups (control – saline solution, treatment 1 - 0.05 mg.Kg⁻¹ of the supplement, treatment 2 - 0.10 mg.Kg⁻¹ of the supplement and treatment 3 - 0.20 mg.Kg⁻¹ of the supplement. Parenteral supplementation was given intramuscularly once a week for 13 weeks. Biologically the animals were clinically evaluated and blood samples were collected for analysis of levels of serum selenium. Selenium analysis was done at the initial moments, before the supplementation (M0), after four weeks of treatment (M4), after eight weeks (M8) and after 12 weeks (M12), atomic absorption spectrophotometry method. The analysis of variance (ANOVA) followed by the Tukey test at 5% was used. It was verified that there was greater gain of weight of the animals treated with selenium and vitamin E in relation to the control group and, also, between the groups. The intensity of hematuria reduced from the sixth week and there was a significant difference between the treated groups and the control group, as well as between the groups. There was a significant difference in serum selenium concentration between treatments. Thus, it is concluded that selenium associated with vitamin E as a supplement for bovines chronically intoxicated for *Pteridium* sp. with EBH in Espírito Santo had a dose-dependent effect on the improvement of the clinical condition, causing a reduction in the intensity of hematuria and an increase in weight gain.

Keywords: Bovine, enzootic hematuria, sodium selenite.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Ganho de peso corpóreo em quilogramas dos bovinos intoxicados cronicamente por <i>Pteridium</i> sp. no Espírito Santo suplementados com selênio associado a vitamina E.....	24
Figura 2- Intensidade da hematúria somente nos bovinos suplementados com selênio associado a vitamina E intoxicados cronicamente por <i>Pteridium</i> sp. no Espírito Santo.	25
Figura 3- Escores de intensidade de hematúria em bovinos intoxicados cronicamente por <i>Pteridium</i> sp. no Espírito Santo suplementados com selênio associado a vitamina E.....	26
Figura 4- Concentração de sérica de selênio nos bovinos intoxicados cronicamente por <i>Pteridium</i> sp. no Espírito Santo suplementados com selênio associado a vitamina E.....	26

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	REVISÃO DE LITERATURA	10
2.2	<i>Pteridium</i> sp	10
2.3	COMPONENTES TÓXICOS DA SAMAMBAIA	11
2.4	INTOXICAÇÃO POR <i>Pteridium</i> sp. EM BOVINOS	13
2.5	MEDIDAS DE CONTROLE E PREVENÇÃO	16
2.6	SUPLEMENTAÇÃO ANIMAL COM SELÊNIO E VITAMINA E	17
3	MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1	Local e animais utilizados no experimento	20
3.2	Suplementação com Selênio	20
3.3	Avaliação clínica, coleta e análise das amostras	21
4	RESULTADOS	23
5	DISCUSSÃO	27
6	CONCLUSÃO	32
7	REFERÊNCIAS	33
	APÊNDICE A	41

1 INTRODUÇÃO

Pteridium sp. (samambaia) é uma planta de distribuição mundial, responsável por diversos quadros de intoxicação em animais e seres humanos (SUGIMURA, 2000; ALONSO-AMELOT; AVENDANO, 2002).

Em bovinos são bastante conhecidos, sendo um quadro de curso agudo, conhecido como síndrome hemorrágica ou diátese hemorrágica e dois quadros crônicos, hematúria enzoótica bovina (HEB) e neoplasias no trato alimentar superior (TAS) (TOKARNIA; DOBEREINER; PEIXOTO, 2012).

Embora estes quadros clínicos sejam muito conhecidos e apesar da distribuição global da planta, as condições ambientais mostram-se importantes para o maior desenvolvimento de *Pteridium* em determinados locais. Aparentemente, os constituintes do solo, o relevo e o clima podem gerar condições epidemiológicas favoráveis para a ocorrência da samambaia (SILVA et al., 2009). Observa-se ainda que a concentração de ptaquilosídeo varia de uma planta para outra (LATORRE et al., 2011), estando estes fatores possivelmente relacionados com os aspectos geográficos da região (ALONSO-AMELOT, 1999).

Estudos realizados na Nova Zelândia com outra espécie de samambaia (*Pteridium esculetum*) demonstrou ptaquilosídeo em 63% de 275 amostras da planta com concentrações de ptaquilosídeo que variaram de 280 a 13300 µg/g (com média de 3800 µg/g). Estes dados confirmaram que a quantidade de ptaquilosídeo pode variar de acordo com a localização geográfica (RASMUSSEN et al. 2008). Na Colômbia, estudos com *Pteridium aquilinum*, em dois municípios diferentes, demonstraram que existem variações na concentração de ptaquilosídeo entre 23 e 1194 µg/g, sendo a concentração média de 342 µg/g (RINCÓN; DIAZ; GARDNER, 2016).

De maneira geral, todos os esforços para controle e prevenção da doença tem sido voltados para o controle e erradicação da planta nos pastos onde os animais são criados, uma vez que o acometimento destes por qualquer quadro agudo ou crônico da doença, não é passível de tratamento o que gera diversos prejuízos econômicos aos produtores (MARÇAL, 2003).

Várias pesquisas têm apontado para o fato dos animais intoxicados representarem riscos para a saúde pública, devido a presença do componente tóxico

no leite. Acredita-se que isto possa representar risco potencial para a ocorrência de câncer do trato gastrointestinal em humanos (FLETCHER, 2011a).

Alguns estudos demonstram que a formação do câncer nesses animais está diretamente relacionada com a diminuição da ação das células *natural killer* (NK) no organismo, ocasionada por *Pteridium* sp., uma vez que essas células são responsáveis pela imunidade inata e, dessa maneira, atuam no combate de células neoplásicas. Conseqüentemente a diminuição da ação das NKs acarreta na falha da eliminação do câncer (LATORRE et al., 2009; ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2008).

Diante disto, pode-se supor que o uso de substâncias de ação imunestimulante poderia representar uma forma alternativa de minimizar os quadros tóxicos e seus riscos e, conseqüentemente, as perdas econômicas. Recentemente, o micromineral selênio foi apontado como importante estimulador do sistema imune inato e, acredita-se que este nutriente poderia ser utilizado como forma de prevenção do câncer, bem como, atuar na reversão de alguns casos de intoxicação em que existam somente lesões não neoplásicas. A associação deste com a vitamina E, um importante antioxidante, poderia demonstrar resultados satisfatórios.

Diante do exposto e a grande ocorrência de casos de intoxicação por *Pteridium* sp. em bovinos na região do Caparaó, sul do Espírito Santo, objetivou-se com esta proposta determinar os efeitos do selênio associado a vitamina E como suplemento para bovinos intoxicados cronicamente por esta planta.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.2 *Pteridium* sp.

Pteridium aquilinum é uma planta vulgarmente conhecida como samambaia, samambaia-do-campo, pluma-grande, samambaia-pluma (TOKARNIA; DOBEREINER; PEIXOTO, 2000). Inicialmente *Pteridium aquilinum*, apresentava duas subespécies e diversas variedades (ALONSO-AMELOT, 1999). No entanto novos estudos realizando análises cromossômicas e de DNA mitocondrial, sugerem a uma nova nomenclatura (DER et al., 2009). A partir dos novos dados *Pteridium aquilinum*, passa a ter sua variedades elevadas para espécie, sendo denominada então *P. caudatum*, e *P. arachnoideum* (THOMSON, 2008, 2012). Entretanto, a nova nomenclatura ainda não se consolidou de forma efetiva no meio científico, mas alguns estudos apontam para a essa alteração com o decorrer do tempo (HOJO-SOUZA; CARNEIRO; SANTOS, 2010).

Esta planta é apontada como uma das mais importantes plantas tóxicas de distribuição mundial, tanto pelo quadro de intoxicação de rebanhos, quanto pela sua alta capacidade carcinogênica observada em animais e seres humanos (SUGIMURA, 2000; ALONSO-AMELOT; AVENDANO, 2002).

Quanto às características morfológicas, a mesma apresenta-se como planta rizomatosa, com folhas medindo de 60 a 120 cm de largura e comprimento variando de 60 a 180 cm, com presença de pinas profundamente lobadas e aspecto glabro (MARÇAL, 2003).

Essa planta está presente nos cinco continentes e se desenvolve em diferentes condições climáticas desde climas semiáridos às regiões de florestas tropicais (ALONSO-AMELOT, 1999). Apesar da distribuição global, as condições ambientais mostram-se importantes para o maior desenvolvimento de *Pteridium* em determinados locais (SILVA et al., 2009). As plantas do gênero *Pteridium* são descritas como capazes de causar danos à vegetação nativa (GUERIN, 2010), no Brasil sua ocorrência limita-se aos estados do Amazonas, Acre, Mato Grosso, Pernambuco e Espírito Santo além das regiões montanhosas desde a região sul da Bahia até o Rio Grande do Sul (TOKARNIA; DOBEREINER; PEIXOTO, 2000).

Aparentemente, os constituintes do solo, o relevo e o clima podem gerar condições epidemiológicas favoráveis para a ocorrência da samambaia (SILVA et al., 2009). A samambaia é de fácil adaptação a diferentes climas e ambientes, e possui elevada capacidade invasora e cosmopolita em decorrência de seus esporos que com o auxílio das correntes de vento se deslocam por centenas de quilômetros, sendo possível a colonização de diversas áreas (TROTTER, 1990). Essa característica cosmopolita pode ser explicada pelo fato de a planta se desenvolver em solos pobres, deficientes de diversos minerais como cálcio, fósforo, e com baixa umidade relativa do ar (DURÃO; FERREIRA; CABRAL, 1995).

2.3 COMPONENTES TÓXICOS DA SAMAMBAIA

De acordo com Cheeke (1998) é de grande importância que uma planta tóxica tenha seu princípio ativo identificado, haja visto que, desse modo, tem-se a possibilidade de desenvolver os procedimentos terapêuticos adequados, bem como auxiliar no desenvolvimento das técnicas profiláticas. Logo, o conhecimento da concentração de determinado princípio ativo permite prever se esta tem a capacidade de intoxicar animais das mais variadas espécies. No entanto, vale ressaltar que isolar um determinado composto tóxico de uma planta não constitui uma base para caracterizá-la como tóxica (TOKARNIA; DOBEREINER; PEIXOTO, 2000).

Neste gênero de planta já foram identificados três glicosídeos norsesquiterpenos (ptaquilosídeo, ptesculentosídeo e caudatosídeo) em quantidades variáveis e acredita-se que todos possam causar toxicidade e carcinogenicidade (FLETCHER, 2011a). No entanto, a maioria das plantas do gênero *Pteridium* possui como composto predominante o ptaquilosídeo (FLETCHER, 2011b; VIRGILIO et al., 2015).

O composto ptaquilosídeo induziu carcinogênese em ratos quando administrado por via intravenosa (HIRONO et al., 1984) ou por via oral na concentração de 0,027-0,08% de ptaquilósido na dieta por um período de 210 dias (HIRONO et al., 1987).

Segundo Yamada; Ojika; Kigoshi, (2007) o ptaquilosídeo pode ser caracterizado como um composto incolor, amorfo, estável à temperatura ambiente por mais de sete dias e a baixas temperaturas (entre -20°C e 0°C) por mais de seis meses, em temperatura ambiente, quanto em solução aquosa, decompõe-se a uma velocidade dependente do pH da solução. Em meio ácido, o ptaquilosídeo dá origem à pterosina B a partir da liberação da D-glicose e aromatização gradual e, em solução alcalina fraca, ocorre também a liberação da D-glicose e o ptaquilosídeo sofre uma conversão rápida em dienona conjugada instável. Em solução aquosa fracamente ácida essa dienona é convertida, de forma acelerada, em pterosina B, sendo estável em solução alcalina por um período de pelo menos uma hora.

De acordo com o mesmo autor a dienona, substância derivada do ptaquilosídeo, em condições alcalinas fracas, constitui a forma ativa do carcinógeno, atuando como agente alquilante de vários nucleófilos. Sua reatividade está relacionada a presença do grupo ciclopropil, em função de este encontrar-se conjugado ao grupo ceto e também por formar um sistema ciclopropil carbinol, constituindo um cátion não-clássico.

Além disso, o efeito carcinogênico de *Pteridium aquilinum*. pode variar de acordo com a espécie animal envolvida na intoxicação, sendo assim, bovinos desenvolvem neoplasias no trato digestivo superior e na bexiga (TOKARNIA; DOBEREINER; PEIXOTO, 2000), enquanto que, em ovelhas intoxicadas cronicamente pela planta, geralmente, observa-se a presença de tumores intestinais (EVANS, 1968). Segundo Tokarnia; Dobereiner e Peixoto, (2012), em bovinos, a ocorrência dos quadros tóxicos varia em função da quantidade de planta ingerida bem como com o tempo de ingestão.

A diferença de carcinogenicidade entre espécimes de *Pteridium aquilinum*, colhidos em duas diferentes áreas é um indicativo de que a toxicidade também varie em função dos aspectos geográficos da região (ALONSO-AMELOT, 1999).

Adicionalmente verificou-se que a capacidade carcinogênica diminui, à medida que a planta envelhece, mas o envelhecimento da planta não afetaria o potencial carcinogênico para formação de tumores intestinais em ratos (HIRONO et al., 1975; PAMUKCU et al., 1980). A formação das neoplasias nesta espécie parece ser influenciada pela idade do animal, uma vez que, Widdop (1967) não conseguiu realizar a indução para a formação de neoplasias intestinais em ratos velhos.

O ptaquilosídeo foi identificado em *Pteridium*, bem como no leite, músculo esquelético, rim, fígado e sangue de bovinos que consumiram a planta por determinado período, demonstrando que estudos de investigação destes produtos e seus resíduos em tecidos devem ser realizados (FLETCHER, 2011a).

2.4 INTOXICAÇÃO POR *Pteridium* sp. EM BOVINOS

A intoxicação de bovinos por *Pteridium aquilinum* ocorre em decorrência da ingestão da planta principalmente nos períodos secos, onde há a escassez das pastagens e a fome torna-se o principal fator que leva os animais a ingerirem, sobretudo, a brotação, considerada a parte mais palatável para os animais, mas ao mesmo tempo a parte da planta que possui maior concentração do princípio tóxico (RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001). Tokarnia, Dobereiner e Peixoto (2002) afirmam que os animais podem desenvolver um vício após ingerir as primeiras vezes e, mesmo com uma forragem adequada, continuam a se alimentar da planta.

Dentre os efeitos tóxicos da planta pode-se citar carcinogênese principalmente em sistemas urinário e digestivo, diátese hemorrágica (TOKARNIA; DOBEREINER; PEIXOTO, 2012) e imunotoxicidade envolvendo redução da atividade de células natural killer (NK) e atrofia de polpa branca do baço (LATORRE et al., 2009).

Sabe-se que as células NK fazem parte do grupo das principais células efectoras da imunidade inata e dentre suas diversas funções encontra-se a liberação de citocinas pró-inflamatórias, a capacidade de destruir células infectadas por agentes e também a capacidade de destruir células que sofreram estresse ou mutação tumoral (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2008). Assim sendo, é plausível relacionar a redução na atividade das células NK com a predisposição para desenvolvimento de infecções virais e com o estabelecimento de neoplasias (LATORRE et al., 2011).

Estudos recentes mostraram que o ptaquilosídeo induz à imunossupressão porque reduz a atividade das células NK devido ao aumento da expressão de metalotioneína (LATORRE et al., 2013).

Em decorrência da dosagem diária ingerida e do período da ingestão, podendo variar de 10 a 30 g/kg por semanas ou anos, os bovinos podem apresentar três diferentes quadros de intoxicação (TOKARNIA; DOBEREINER; PEIXOTO, 2012). O

primeiro destes, constitui-se um quadro de intoxicação aguda, conhecido como diátese hemorrágica, que acomete os animais principalmente durante os meses de novembro a maio, período ao qual há a escassez das pastagens. Os animais acabam ingerindo grandes quantidades do broto levando a ocorrência de surtos ou casos isolados, dessa forma caracteriza-se como uma doença de baixa frequência e elevado índice de mortalidade e letalidade (BORELLI et al., 2008).

O quadro agudo geralmente acomete animais com idade média de dois anos mas sua ocorrência pode ser observada em bezerros de até seis meses de idade. A sintomatologia clínica aparece quando os animais ingerem quantidades diárias de 10 a 30 g/kg de samambaia, durante um período que pode variar de três a oito semanas (TOKARNIA; DOBEREINER; PEIXOTO, 2012).

Dentre os sinais clínicos observa-se febre variando de 39 a 42°C, anorexia, atonia ruminal, hematoquesia, diarreia fétida, dificuldade respiratória, úlceras na boca, hemorragias cutâneas nas mucosas das narinas, vulva, reto e conjuntiva. Com a evolução do quadro os animais podem apresentar ainda apatia, sialorréia, estertores respiratórios, evoluindo para decúbito e morte (RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001; FRANÇA; TOKARNIA; PEIXOTO, 2002).

Os outros dois quadros de intoxicação estão relacionados com a ingestão crônica da planta que ocasionam formações de neoplasias em diferentes órgãos. As neoplasias no trato alimentar superior (TAS), são ocasionadas pelo consumo de menos que 10 g/kg samambaia por vários anos (TOKARNIA; DOBEREINER; PEIXOTO, 2000). Esta forma de acometimento é caracterizada pela formação de carcinomas epidermóides nas vias digestivas superiores (DOBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1967, TOKARNIA; DOBEREINER; CANELLA, 1969). Vacas de leite com idades entre cinco a seis anos, geralmente são mais acometidas (TOKARNIA; DOBEREINER; PEIXOTO, 2000).

Os sinais clínicos das neoplasias do TAS comumente observados são ronqueira, regurgitação, timpanismo crônico (DOBEREINER; TOKARNIA; CANELLA, 1967) tosse, dificuldade de respiração, edema submandibular, corrimento nasal, atonia ruminal, diarreia e emagrecimento progressivo (TOKARNIA; DOBEREINER; CANELLA, 1969).

A outra forma de manifestação crônica é conhecida como hematúria enzoótica bovina (HEB), que foi demonstrada pela primeira vez em 1960 por Rosenberger e Heeschen, é caracterizada como doença endêmica de caráter não infeccioso, que

ocasiona lesões hemangiomas (de origem das células endoteliais que revestem os vasos sanguíneos), na parede vesical de curso crônico (RADOSTITIS et al., 2007), responsáveis pela coloração avermelhada ou acastanhada da urina, caracterizando o quadro de hematúria. Nas fases iniciais da enfermidade não há alteração da coloração, sendo evidenciada apenas microhematúria (FENWICK; BRACKEN 1989).

Macroscopicamente a neoplasia em decorrência à intoxicação por samambaia pode variar de acordo com a vascularização do tumor, ou seja, podem se apresentar pálidos ou hemorrágicos. Da mesma forma o tamanho e forma pode variar de milímetros a centímetros, e formas pendulares verrucóides, discretas ondulações na mucosa vesical, podendo ser infiltrativos ou superficiais (CARVALHO; PINTO; PELETEIRO, 2006, GABRIEL et al., 2009, GONZÁLES et al., 2004, SOUTO et al., 2006).

Dentre as lesões não neoplásicas associadas aos quadros de HEB destacam-se as lesões de hiperplasia, hipoplasia, descamação, degeneração do epitélio e infiltrado mononuclear difuso na bexiga, e dessa forma a hematúria pode estar relacionada à dilatação e congestão dos vasos sanguíneos, (CRUZ; BRACARENSE, 2004).

Silva et al. (2009) ao comparar as apresentações macroscópicas e microscópicas dos tumores vesicais, constatou que diferentes apresentações macroscópicas tinham o mesmo diagnóstico microscópico, dessa forma, um mesmo tipo tumoral pode apresentar diferentes formas macroscópicas.

Outros sinais clínicos que podem ser evidenciados são o emagrecimento progressivo, prostração, incontinência urinária e anemia associada a redução do hematócrito, linfocitose com leucopenia (ANJOS et al, 2008) e, em casos muito crônicos, há evolução para a morte dos animais (TOKARNIA; DOBEREINER; PEIXOTO, 2012).

O desenvolvimento dessa enfermidade está condicionado com a ingestão de de 10g/kg/dia da samambaia por pelo menos dois anos. Os surtos geralmente são descritos em regiões de elevadas altitudes, com clima frio, e solos pobres, que propiciam o crescimento da planta (TOKARNIA; DOBEREINER; PEIXOTO, 2000).

O diagnóstico da HEB deve ser estabelecido com base nos dados epidemiológicos, sinais clínicos, e lesões microscópicas e macroscópica da vesícula urinária (MOREIRA-SOUTO et al. 2006). De acordo com os mesmos autores o primeiro passo para a o estabelecimento de uma linha diagnóstica é a realização de

verificação dos pastos aonde os animais estão alocados, para a constatação da presença da planta.

Para o diagnóstico diferencial deve-se levar em consideração outras enfermidades com cursos parecidos, como a leptospirose, babesiose, anaplasnose e hemoglobinúria bacilar (TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; da SILVA, M.F, 1979).

2.5 MEDIDAS DE CONTROLE E PREVENÇÃO

A profilaxia é a única medida efetiva capaz de reduzir o acometimento da enfermidade no rebanho. A erradicação da samambaia da pastagem consiste no método de maior eficácia para o controle, o sucesso desse ato, está condicionado a um longo período de tempo, mas constitui a melhor estratégia para acabar com os casos de intoxicações (MARÇAL, 2003).

Outra forma de precaução é a suplementação correta desses animais, evitando a escassez de forragem e, conseqüentemente, isto evita que os animais busquem outras fontes de alimento (MARÇAL, 2003).

O desmatamento, a degradação das pastagens e as pastagens abandonadas contribuem para o desequilíbrio ecológico e empobrecimento do solo, favorecendo a proliferação da samambaia nos pastos (MARÇAL et al., 2001). Algumas ações relacionadas com a correção da acidez do solo, propiciam um maior controle no crescimento da planta, medidas como aração terra e conseqüente exposição dos rizomas, ocasionam o ressecamento dos mesmos, impedindo a rebrota (LE DUC et al. 2000).

É importante que haja uma correta e contínua mineralização do rebanho em áreas onde a samambaia ainda não foi completamente eliminada. A mineralização exerce uma importante ação preventiva, evitando tornar os animais imunodeprimidos e mais vulneráveis, condição propícia para que a planta acelere as manifestações tóxicas nos bovinos (MARÇAL, 2003).

A reversão do quadro clínico da hematúria enzoótica bovina somente é possível no estágio inicial da doença se os animais forem isolados das áreas aonde há a ocorrência da planta, porém se houver novo contato dos animais com a planta a hematúria volta a ocorrer (TOKARNIA; DOBEREINER; PEIXOTO, 2012).

Latorre et al. (2011), verificou que a intoxicação com *P. aquillinum* em ratos causa atrofia de polpa branca no baço, assim como verificado em bovinos naturalmente intoxicados por Tokarnia; Dobereiner e Canella (1967). No mesmo estudo Latorre et al. ao administrar selênio obteve a regressão completa desse quadro e dessa maneira propuseram que a utilização do selênio como imunestimulante do sistema imune inato poderia ser utilizado como forma de prevenção da instalação do câncer nos animais de produção, assim como atuar revertendo alguns casos de intoxicação.

2.6 SUPLEMENTAÇÃO ANIMAL COM SELÊNIO E VITAMINA E

O selênio é um micromineral essencial para os animais e atua em diversas funções do organismo, como fertilidade, prevenção de doenças, sistema imune, dentre outras (MCDOWELL, 2003).

Por muito tempo o interesse biológico no selênio estava voltado para sua toxidez. Dessa maneira, muitas pesquisas foram direcionadas para a determinação da quantidade tóxica do elemento, bem como de medidas de prevenção e controle para que a mesma não ocorresse. Somente a partir do ano de 1957 foi descoberta importância do selênio para o organismo animal, onde se verificou que ratas com suplementadas com selênio não desenvolviam necrose hepática. Posteriormente, em 1973, com a descoberta da enzima glutathiona peroxidase (GPx), foi estabelecido o papel bioquímico do selênio e a dependência da ingestão de selênio para a atividade dessa enzima se tornou evidente (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999).

Assim, o selênio está envolvido com três funções básicas do organismo, que são: ação antioxidante, ação hormonal e ação imunestimulante (ARTHUR; MCKENZIE; BECKETT, 2003). Em relação à defesa antioxidante, o selênio possui atividade na enzima glutathiona peroxidase, que impede a formação de peróxidos durante a oxidação dos lipídios da membrana celular, evitando a ação de radicais livres sobre as membranas celulares e outros danos oxidativos (LUCENA, 2010).

De acordo com Arthur, Mckenzie e Beckett. (2003), este micromineral também está ligado ao metabolismo do hormônio da tireóide, uma vez que faz parte da iodotironina 5 responsável pela conversão do T4 para o T3.

Estes mesmos autores citaram que, no sistema imune, o selênio influencia tanto o sistema imune inato quanto o adquirido, sendo importante para os linfócitos, macrófagos e sistema humoral (IgM, IgG, IgA). Este micromineral protege os macrófagos e leucócitos frente aos compostos tóxicos secretados por bactérias ingeridas e aumenta os títulos de anticorpos e fagocitose.

Alguns estudos avaliando a ação do selênio na resposta imune utilizando tumores como modelo, têm demonstrado a capacidade de este nutriente em reduzir ou até mesmo inibir o crescimento tumoral seja em humanos ou em modelos murinos (BJORKHEM-BERGGMAN, et al., 2005; REID, et al., 2002).

Esta ação do selênio frente ao crescimento tumoral pode ser explicado pela sua ação na potencialização da ação das células NK, que possui atividade “missing self” contra células tumorais, que consiste na da redução ou não expressão de moléculas MHC, principalmente classe I (DOUBROVINA et al., 2003)

Dessa forma as células NK induzem a citólise por meio do reconhecimento de células que apresentam fragmento de CD16. Essa ação citolítica leva a apoptose em células tumorais, via caspases ou não (KHONG & RESTIFO, 2002).

Além disto, notam-se outros efeitos favoráveis do selênio, como por exemplo, nos mecanismos de defesa da glândula mamária. Nos últimos anos, tem sido demonstrado que a deficiência de selênio na dieta está intimamente ligada ao aumento da incidência de mastite no rebanho, que é justificado pela função exercida por esse mineral frente aos mecanismos de defesa, resistência, e proteção das membranas celulares (SMITH et al., 1984).

O selênio atua principalmente como um antioxidante, junto com a vitamina E, para proteger as membranas da célula e prevenir a geração de radicais livres, diminuindo assim o risco de distúrbios reprodutivos como infecções uterinas, retenção de placenta, mastite. Ainda sobre a ação conjunta dos dois elementos, é sabido que os efeitos da Vitamina E no organismo animal pode ter maior efetividade quando associado ao selênio (LANGONI, 2000).

A vitamina E possui também influência no metabolismo dos ácidos graxos essenciais, e ainda é utilizada para facilitar a absorção e armazenamento de Vitamina A (VALLE, 2000).

A deficiência de selênio e vitamina E na alimentação de ruminantes pode ocasionar ainda a doença do músculo branco, também denominada como degeneração muscular nutricional, doença do cordeiro rígido, distrofia muscular nutricional, ou ainda miopatia nutricional, e representa uma enfermidade miodegenerativa de curso agudo ou subagudo, com diferentes sintomatologias clínicas dependendo do músculo afetado, levando a debilidade muscular, tremores ou até mesmo a morte súbita (MAAS et al., 2006).

Na reprodução animal, especificamente em machos, foi verificado que o selênio exerce função antioxidante, agindo na formação e maturação espermática. Possui função estrutural, por meio da selenoproteína PH-GSH-PX que compõe estrutura fixa da peça intermediária dos espermatozoides, na membrana e nas mitocôndrias. Desta forma, quando o selênio possui baixos níveis no organismo animal ocorre o comprometimento da formação dos espermatozoides, e conseqüentemente o surgimento de alterações morfológicas como cauda dobrada e deformações da peça intermediária (WILD, 2006).

Nas fêmeas possui função antioxidante, na formação dos ovócitos e na maturação dos folículos que promoverão a ovulação. O selênio possui ainda ação direta no metabolismo hormonal da progesterona, pela selenoproteína que estimula a síntese de prostaglandina E, que protege o corpo lúteo, responsável pela produção de progesterona (SMITH, 2000). Além da função hormonal, o selênio atua no útero pelos efeitos antioxidantes mantendo o ambiente saudável para a fixação do espermatozoide e posterior desenvolvimento gestacional (SANTOS, 1999).

Assim, a deficiência de selênio leva a uma baixa eficiência reprodutiva das vacas, morte embrionária precoce, abortos, infecções uterinas, retenção de placenta e problemas reprodutivos dos machos quanto a viabilidade dos espermatozoides (WILD, 2006).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e animais utilizados no experimento

O experimento foi conduzido sob protocolo CEUA nº 03/2017 em propriedades leiteiras dos municípios de Ibitirama e Divino de São Lourenço, microrregião do Caparaó, Espírito Santo. As propriedades foram identificadas como Fazenda A (20°32'46,7"S 41°36'20.0"W), Fazenda B (20°32'36.5"S 41°39'11.0"W) Fazenda C (20°33'01.9"S 41°39'08.0"W) Fazenda D (20°37'07.1"S 41°41'08.5"W).

Os proprietários foram contatados e concordaram com o termo de consentimento de livre e esclarecido para a participação na pesquisa.

Foram identificados animais intoxicados cronicamente e com HEB, com histórico de hematúria nos últimos dois anos. Levou-se em consideração os dados epidemiológicos da propriedade, incluindo a presença da planta nas áreas de pastejo dos animais. Foram selecionados 21 animais.

Os animais foram examinados clinicamente para a confirmação da hematúria (macro ou micro), coletada urina por micção espontânea em tubos de vidro de 10mL e coletado lavado vesical para avaliação citológica pela técnica descrita por Azevedo et al. (2015). Além disto foi feita a coleta de sangue por punção da veia caudal em tubos à vácuo contendo anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) para a avaliação do volume globular médio (VGM) no momento inicial. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário (HOVET) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) para processamento e análise.

3.2 Suplementação com selênio associado a vitamina E

Os animais foram submetidos à suplementação parenteral, via intramuscular, com selênio associado a vitamina E ¹(TOCO-SELENIO®), segundo Gierus (2007),

® Toco-Selênio (Vitamina E 8.811 U.I., Pangamato sódico 100 mg, Selênio (como selenito sódico 60 mg) e veículo hidrossolúvel q.s.p. 100 mL). Hertape Calier Saúde Animal S/A, Rodovia MG-050 - Km 18,5 Distrito Industrial, Juatuba - MG - CEP 35675-000.

uma vez por semana, durante 13 semanas e divididos ao acaso em quatro grupos (Tabela1).

Tabela 1 Grupos experimentais e tratamentos estabelecidos para a avaliação dos efeitos da suplementação com selênio em bovinos intoxicados cronicamente por *Pteridium* sp. no Espírito Santo.

GRUPOS	TRATAMENTOS
CONTROLE	2 mL de soro fisiológico
TRATAMENTO 1	0,05mg/Kg de Selênio+Vit E
TRATAMENTO 2	0,10mg/Kg de Selênio+Vit E
TRATAMENTO 3	0,20mg/Kg de Selênio+Vit E

3.3 Avaliação clínica, coleta e análise das amostras

A cada semana, antes da aplicação do selênio, todos os animais foram avaliados clinicamente para a verificação da hematúria e pesados utilizando-se fita métrica de pesagem para bovinos de leite SUPRIVET®² para a determinação da dosagem a ser administrada. A hematúria foi avaliada de acordo com a intensidade por método semi-quantitativo baseado em escores variando do 1 ao 4 (1=ausente, 2=discreta, 3=moderada e 4=intensa).

Quinzenalmente foram coletadas amostras de sangue por punção da veia caudal, em tubos à vácuo (5mL) sem anti-coagulante e com anti-coagulante (heparina). Todas as amostras foram devidamente identificadas, acondicionadas em caixas térmicas contendo gelo e, em seguida, transportadas até o Laboratório de Patologia Animal do HOVET-UFES.

No laboratório, as amostras de sangue com anticoagulante foram submetidas ao congelamento imediato em freezer a -80°C. As amostras de sangue sem anticoagulante foram centrifugadas a 3.000 rpm durante 10 minutos e o soro foi transferido para tubos ependorf com o auxílio de pipeta e, posteriormente foram congelados a -80°C.

A análise de selênio foi feita nos momentos inicial, ou seja, antes da suplementação com Se (M0), após quatro semanas de tratamento (M4), após oito semanas de tratamento (M8) e após 12 semanas de tratamento (M12). A definição

® SUPRIVET

Rua Pernambuco 559, Sala 802, Centro, Divinópolis/MG, CEP: 35.500-008.

dos momentos amostrais foi segundo Latorre et al. (2013). A técnica para esta análise foi pelo método de espectrofotometria de absorção atômica e foi realizada no Laboratório Hidrocepe, em Belo Horizonte, Minas Gerais.

Para a análise estatística da hematúria nos diferentes momentos utilizou-se o método descritivo em gráfico baseado nos escores de intensidade. Para a comparação entre a dosagem de selênio com as variáveis ganho de peso, avaliação da intensidade da hematúria e concentração sérica de selênio utilizou-se análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey a nível de 5% de significância.

4 RESULTADOS

Dos 21 animais selecionados, todas fêmeas, sem raça definida, com idade variando de 4 a 10 anos e peso corporal entre 230Kg e 355Kg, quatro animais foram obtidos na Fazenda A, oito na Fazenda B, três na Fazenda C e seis Fazenda D. Todas as propriedades avaliadas apresentavam *Pteridium* sp. nas suas áreas de pastejo.

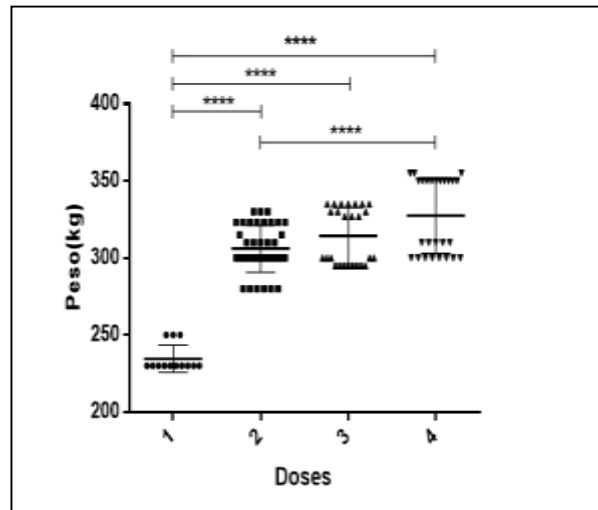
À avaliação da história clínica e confirmação de hematuria, verificou-se que 90,47% (19/21) dos animais avaliados apresentaram sangue na urina (macrohematuria) no momento da coleta. Apenas 9,53% (2/21) apresentaram microhematuria, no entanto, estes animais possuíam histórico de ter apresentado macrohematuria há aproximadamente cinco meses antes do experimento.

Em relação à citologia pelo lavado vesical, apenas um animal revelou cistite aguda de provável origem bacteriana. Os demais animais revelaram somente hemácias e debris celulares no material amostrado.

A avaliação do volume globular médio revelou que todos os animais apresentaram-se anêmicos, ou seja, hematócrito abaixo dos valores de referência para a espécie no momento inicial antes da suplementação (Apêndice A).

Após a seleção dos animais, um animal da Fazenda D veio a óbito. Além disto, nas primeiras semanas da suplementação, dois produtores desistiram de dar continuidade à pesquisa e comercializaram os animais. Portanto, dos 21 bovinos selecionados para o estudo, restaram apenas oito que foram mantidos até o final do experimento. Dos oito bovinos avaliados, três foram provenientes da Fazenda C e cinco da Fazenda D.

Em relação ao ganho de peso corpóreo, verificou-se que houve diferença significativa entre os grupos tratados (1, 2 e 3) em relação ao grupo controle, assim como entre os grupos tratamento 1 e 3 ($p < 0,05$) (Figura 1).

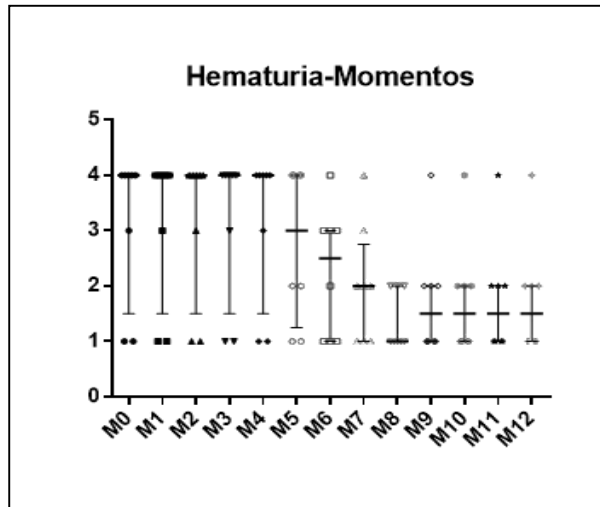


*Eixo horizontal: Grupos experimentais (1- Controle; 2- Tratamento 1; 3- Tratamento 2; 4- Tratamento 3)

Eixo vertical: números cardinais utilizados para determinação do peso em quilogramas dos animais.

Figura 1- Ganho de peso corpóreo em quilogramas dos bovinos intoxicados cronicamente por *Pteridium* sp. no Espírito Santo suplementados com selênio associado a vitamina E.

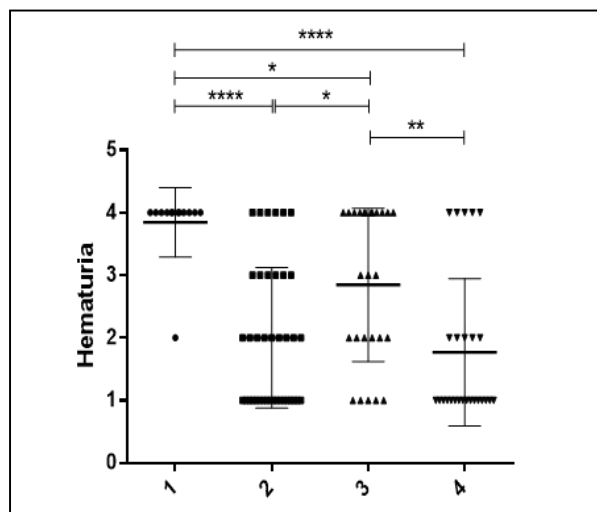
Em relação à melhora do quadro clínico de hematúria pode-se observar que a mesma teve declínio, ou seja, reduziu, a partir da sexta semana, evoluindo para total ausência de hematúria ao final do período experimental, nos grupos tratamento (Figura 2).



*Eixo horizontal: M - Momentos experimentais (M0 - M12) de todos os tratamentos com exceção do grupo controle.
 Eixo vertical: números cardinais utilizados para determinação dos escores de intensidade da hematúria (1- Ausente; 2- Discreta; 3- Moderada; 4- Intensa).

Figura 2- Intensidade da hematúria somente nos bovinos suplementados com selênio associado a vitamina E intoxicados cronicamente por *Pteridium* sp. no Espírito Santo.

Entretanto, quando avaliada a intensidade da hematúria em relação aos diferentes grupos experimentais, pôde-se notar diferença significativa entre os grupos tratados e o grupo controle, assim como entre o grupo tratamento 2 em relação aos tratamentos 1 e 3 (Figura 3).

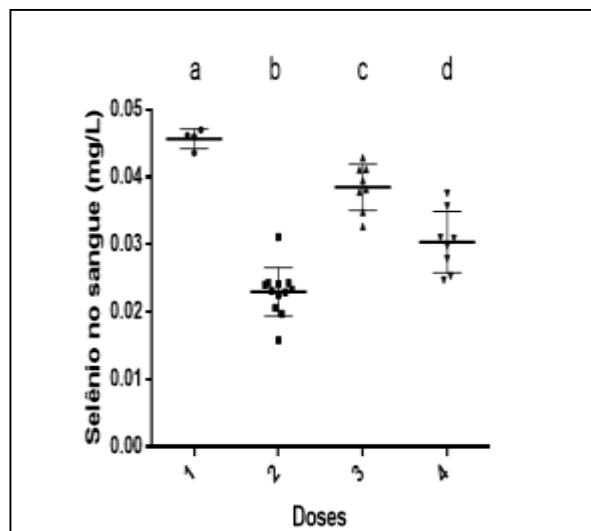


*Eixo horizontal: Grupos experimentais (1- Controle; 2- Tratamento 1; 3- Tratamento 2; 4- Tratamento 3)

*Eixo vertical: números cardinais utilizados para determinação dos escores de intensidade da hematúria (1- Ausente; 2- Discreta; 3- Moderada; 4- Intensa).

Figura 3- Escores de intensidade de hematúria em bovinos intoxicados cronicamente por *Pteridium* sp. no Espírito Santo suplementados com selênio associado a vitamina E.

Em relação à concentração sérica de selênio verificou-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) dos grupos tratados em relação ao controle. Também verificou-se diferença entre todos os grupos tratamento (Figura 4).



*Eixo horizontal: Grupos experimentais (1- Controle; 2- Tratamento 1; 3- Tratamento 2; 4- Tratamento 3)

*Eixo vertical: concentração sérica de selênio em mg/L.

Figura 4- Concentração de sérica de selênio nos bovinos intoxicados cronicamente por *Pteridium* sp. no Espírito Santo suplementados com selênio associado a vitamina E.

5 DISCUSSÃO

A ocorrência de hematúria enzoótica bovina bem como a existência de *Pteridium* sp. (samambaia) no Estado do Espírito Santo é bastante frequente. Em um estudo realizado em 50 propriedades de bovinos leiteiros da microrregião do Caparaó, sul do Espírito Santo, também foi observada presença da planta em todas as propriedades amostradas (SILVA et al. 2009). A ocorrência da planta na região pode ser explicada pelo clima, topografia, e composição dos solos que favorecem o crescimento da samambaia (DURÃO; FERREIRA; CABRAL, 1995).

De acordo com Silva et al. (2009), apesar de a planta ter sido encontrada em todos os municípios da região citada, somente em cinco municípios (50%) foi constatada a presença de hematúria nos animais com prevalência de 56,4% da doença na região. No presente estudo, os dois municípios avaliados pertencem a área endêmica de infestação pela planta e ocorrência de hematúria descritos por estes mesmos autores.

Além disso esta mesma região possui uma criação extensiva de bovinos e, o contato desses animais com a planta, ocasiona muitos prejuízos para o produtor como a morte dos animais e a diminuição da produção leiteira (NUNES, 2009).

É importante destacar que para a caracterização dos animais como cronicamente intoxicados por samambaia, no presente estudo, a presença de macrohematúria foi o principal sinal clínico utilizado. De acordo com Rosenberguer (1971) esse pode ser um sinal cardinal da doença, que se inicia com a microhematúria antes do estabelecimento de leões neoplásicas.

A microhematúria encontrada nos animais pode ser explicada pelos períodos de remissão da doença, que apesar de ainda não se encontrar uma cura definitiva, pode cursar por períodos de semanas ou meses sem sangramento, o que leva a acreditar que ainda não houve o acometimento neoplásico da bexiga, mas pode cursar com petéquias e equimoses na mucosa vesical (TOKARNIA; DOBEREINER; PEIXOTO, 2000).

Em relação às técnicas de diagnóstico para se detectar a hematúria, Azevedo et al. (2015) testaram diferentes técnicas de coleta do lavado vesical em que foi recuperado todo o líquido vesical infundido ou recuperado apenas o último lavado, no entanto, não observaram diferenças na obtenção da celularidade. Assim, estes autores observaram células epiteliais em 60% dos casos, não sendo possível

classificar nenhuma amostra como hiperplásica ou neoplásica. No presente estudo, utilizou-se como critério de seleção amostral a técnica citologia por lavado vesical. No entanto, observou-se apenas intensa quantidade de hemácias e um quadro de cistite aguda. Desta forma, percebe-se que esta técnica, utilizada de forma isolada, pode não trazer resultados significativos, porém, pode ser uma ferramenta importante quando existe microhematúria.

Azevedo et al. (2015) também citaram algumas desvantagens desta técnica em que as amostras obtidas por meio do lavado vesical podem muitas vezes não revelar o acometimento neoplásico desses animais.

Em relação aos resultados obtidos com o ganho de peso corpóreo dos animais analisados, os dados corroboram com os obtidos por Meirelles (2009) em um estudo com diferentes fontes de selênio na suplementação de bovinos da raça Brangus com o intuito de aumentar o ganho de peso e rendimento de carcaça, em que se encontrou diferença significativa entre as diferentes dosagens de selênio administradas em relação ao grupo controle. Por outro lado, o mesmo estudo não identificou diferença entre as diferentes fontes de selênio utilizadas, ou seja, não houve diferença entre a utilização de selênio orgânico ou inorgânico.

Estes mesmos autores ainda avaliaram a influência do selênio na eficiência alimentar e observaram que a suplementação com selenito de sódio foi significativa em relação ao grupo controle. Assim pode-se sugerir que o presente estudo utilizando também a fonte inorgânica de selênio, obteve resultados satisfatórios.

Entretanto, em um estudo realizado por Lawer et al. (2004) com diferentes fontes de selênio por via oral para a suplementação de novilhos não foi observada relação da suplementação com o ganho de peso dos animais e a eficiência alimentar. Isto pode ser explicado pelo fato dos animais analisados por estes autores possuírem os níveis de selênio dentro das normas preconizadas para bovinos, o que torna a avaliação diferente do estudo realizado por Meirelles (2009) e do presente estudo.

Neste estudo não foi possível uma avaliação da eficiência alimentar tendo em vista que os animais estavam alocados em propriedades particulares e possuíam manejos alimentares distintos.

A vitamina E é capaz de quelar formas reativas de oxigênio, diminuindo a formação de peróxidos. Assim, protege a membrana lipídica, receptores e outros componentes celulares envolvidos na modulação da resposta imunológica (MEYDANI, 1995). Neste contexto, Nidiweni e Finch (1996) mostraram que a

suplementação com vitamina E e selênio aumentou significativamente a quimiotaxia, a migração e a fagocitose dos neutrófilos de bovinos contra *Staphylococcus aureus*. No entanto, ainda pouco se sabe sobre os mecanismos de estimulação da resposta imunológica nos bovinos.

Segundo Bjorkhem-Berggman et al. (2005), a ação do selênio na resposta imune e redução tumoral utilizando murinos como modelos experimentais, tem demonstrado resultados satisfatórios, demonstrando a capacidade de esse nutriente reduzir ou até mesmo inibir totalmente o crescimento tumoral seja em modelos experimentais ou humanos.

A redução da intensidade da hematúria após a suplementação de selênio associado a vitamina E foi nítida neste estudo. No entanto, não foi possível confirmar se os animais com HEB possuíam lesões neoplásicas e/ou não neoplásicas. Assim, não há como afirmar que houve ação direta do selênio e da vitamina E sobre a neoplasia e também não há como inferir o mecanismo de ação do selênio sobre as lesões vasculares (não neoplásicas) da bexiga dos animais intoxicados.

Sabe-se que as lesões não-neoplásicas da HEB caracterizam-se principalmente por ectasias e dilatações vasculares. Neste mesmo contexto, sabe-se que existem diversos estudos em modelos animais e em humanos que comprovam o envolvimento do estresse oxidativo na aterogênese e ainda sugerem que o consumo de alguns antioxidantes tenha um importante efeito no tratamento e prevenção das doenças cardiovasculares (THOMSON et al., 2007). Assim, é possível que o uso do selênio associado a vitamina E possam causar redução do quadro de vasodilatação que ocorre na bexiga urinária dos animais com HEB.

Hort (2011) demonstrou que o tratamento com disseleneto de difenila, uma forma de selênio orgânica, reduziu a extensão da área de lesão aterosclerótica em camundongos submetidos à dieta hipercolesterolêmica. Este autor justificou os efeitos do disseleneto de difenila sobre a aterosclerose experimental em camundongos pela redução do estresse oxidativo, atenuação do processo inflamatório e melhora do prejuízo da vasodilatação dependente do endotélio e redução da razão do colesterol não-HDL/HDL (lipoproteína de alta densidade).

Embora os mecanismos de lesão vascular na HEB e na arteriosclerose sejam distintos a ação do selênio sobre o endotélio vascular merece ser melhor avaliada.

A suplementação com selênio juntamente com a vitamina E, vem sendo bastante empregada na produção animal, uma vez que o selênio aumenta a

efetividade da vitamina E e assim associados possuem diversos efeitos benéficos, sejam estes no âmbito da reprodução animal, como a influência da viabilidade dos espermatozoides em machos e também efeitos antioxidantes no ovário e útero nas fêmeas. Ainda atua na melhora das condições da glândula mamária, diminuindo o índice de mastite por meio de melhora dos mecanismos de defesa (SMITH et al., 1984; WILD, 2006; SMITH, 2000; SANTOS, 1999). No entanto, os efeitos do selênio e da vitamina E como suplemento para animais intoxicados por *Pteridium* sp. ainda precisam ser melhor esclarecidos.

Sabe-se que o selênio no organismo animal é absorvido e depositado inicialmente no fígado e, posteriormente, é transferido para o soro. Dessa forma o soro funciona como principal reservatório de selênio no organismo animal e como um importante indicador de selênio, uma vez que mudanças nas concentrações séricas do elemento no soro ocorrem dentro de alguns dias, desde o início da mudança na suplementação do mineral ao animal (HERDT, 2000). Estes mesmos autores citaram que, por outro lado, a dosagem de selênio no sangue total torna-se inviável para uma detecção precoce de suplementação, porém pode ser utilizada para determinar a ingestão a longo prazo do mesmo.

Neste estudo a concentração sérica de selênio foi medida no soro pelo método de espectrofotometria de absorção atômica em todos os momentos amostrados. No entanto, entende-se que poderia ser utilizado o sangue total para a constatação da deficiência de selênio no momento inicial. Porém, para a avaliação das mudanças das concentrações em curtos períodos, o soro é o mais indicado.

Os limites entre níveis essenciais e tóxicos do selênio são bastante estreitos, variando de acordo com a via de administração, dessa forma, por via oral os níveis ideais de selênio estão por volta de 0,1ppm, e no máximo 0,5ppm, enquanto que, na administração por via intramuscular a dosagem indicada é de 0,1mg/Kg de aplicação, sendo a dosagem tóxica a partir 0,3mg/Kg (GONZÁLEZ,2000).

No presente trabalho nota-se que a utilização do selênio como estratégia para diminuir a intensidade de hematuria nos animais cronicamente intoxicados configurou-se como uma boa alternativa, sendo que a utilização da menor e da maior dosagem propostas mostraram-se viáveis. No entanto, a maior dosagem aproxima-se da dosagem tóxica, o que configura um risco. Assim, levando-se em consideração o baixo limiar de toxidez desse elemento para bovinos, acredita-se que a utilização da

menor dosagem ou mesmo da dosagem intermediária, que também teve efeitos satisfatórios, seria mais interessante para que se tenha uma boa margem de segurança e minimize os riscos de intoxicação nos animais.

6 CONCLUSÃO

Conclui-se que o selênio associado a vitamina E como suplemento para bovinos intoxicados cronicamente por *Pteridium* sp. no Espírito Santo com quadro de HEB teve efeito dose dependente sobre a melhora do quadro clínico causando redução da intensidade de hematúria e aumento do ganho de peso.

7 REFERÊNCIAS

- ABBAS, A.K., LITCHMAN, A.H., PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier Saunders, 2008,564p.
- ALONSO-AMELOT, M. E. Helecho macho, salud animal y salud humana. **Revista de la Facultad de Agronomía LUZ**, v. 16, p.528-541, 1999.
- ALONSO-AMELOT, M. E.; AVENDANO, M. Human carcinogenesis and bracken fern: A review of the evidence. **Current Medicinal Chemistry**, v. 9, n. 6, p. 675-686, 2002.
- ANJOS, B.L.; IRIGOYEN, L. F.; FIGHERA, R. A.; GOMES, A. D.; KOMMERS, G. D.; BARROS, C. S. L. Intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium* sp.) em bovinos na Região Central do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira.**, v. 28, n. 10, p. 501-507, 2008.
- ARTHUR, J.R.; MCKENZIE, R.C.; BECKETT, G.J. Selenium in the immune system. **Journal of Nutrition**, v.133, 2003.
- AZEVEDO, M.A.S.; DE OLIVEIRA, E.V.; TRIVILIN, L.O.; NUNES, L. de C. Lavado vesical de bovinos com hematúria enzoótica: padronização de técnica de colheita, obtenção de amostras e avaliação citopatológica. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 82, p. 1-8, 2015.
- BJORKHEM-BERGMAN, L.; TORDAL, U.B.; EKEN, S.; NYSTROM, C.; CAPITANIO, A.; LARSEN, E.H.; BJÖRNSTEDT, M.; ERIKSSON, L.C. Selenium prevents tumor development in rat model chemical carcinogenesis. **Carcinogenesis**, 26: 125-131, 2005.
- BORELLI V.; ZANDONAI A.;FURLAN F.H.; TRAVERSO S.D.; GAVA A. Intoxicação por plantas diagnosticadas em bovinos pelo laboratório de patologia animal CAV/UEDESCS no período de janeiro de 2000 a abril de 2008. In: **ENCONTRO NACIONAL DE DIAGNÓSTICO VETERINÁRIO**, 2008, Campo Grande, Anais..., Campo Grande, p. 59-60, .2008.
- CARVALHO T.; PINTO C.; PELETEIRO M.C. Urinary bladder lesions in bovine enzootic haematuria. **Journal of Comparative Pathology**, v.134, p. 336-346, 2006. .
- CHEEKE, P.R. **Natural toxicants in feeds, Forages, and Poisonous Plants**. 2°ed. Danville: Interstate Publishers, 479p., 1998.

CRUZ, G.D.; BRACARENSE, A.P.F.R.L. Toxicidade da samambaia (*Pteridium* sp. (L.) Kuhn) para a saúde animal e humana. **Semina: Ciências Agrárias**, v.25, n.3, p.249-58, 2004.

DER, J. P.; THOMSON, J. A.; STRATFORD, J. K.; WOLF, P. G. Global chloroplast phylogeny and biogeography of bracken (*Pteridium*; Dennstaedtiaceae) **American Journal of Botany**, v. 96, n. 5, p. 1041-1049, 2009.

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

DOUBROVINA, E.S.; DOUBROVIN, M.M.; VIDER, E.; SISSON, R.B.; O'REILLY, R.J.; DUPONT, B.; VYAS, Y.M. Evasión from NK cell immunity by MHC class I Caín-related molecules expressing colon adenocarcinoma. **Journal of Immunology**, v.171, p.6891-6899, 2003.

DURÃO, J. F. C. FERREIRA, M. L. CABRAL, A. Aspectos anatomopatológicos e clínicos da hematória enzoótica dos bovinos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.5, n.1, p.11-20, 1995.

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

FENWICK, G.R. BRACKEN (*Pteridium* sp.)—toxic effects and toxic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, n. 2, v. 12, p.147-173, 1989.

FLETCHER, M.T. Norsesquiterpene glycosides in bracken ferns (*Pteridium esculentum* and *Pteridium* sp. subsp. *wightianum*) from Eastern Australia: reassessed poisoning risk to animals, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, p.5133-5138, 2011a.

FLETCHER, M.T. Residue potential of norsesquiterpene glycosides in tissues of cattle fed Austral bracken (*Pteridium esculentum*), **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p.8518-8523, 2011b.

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

- GABRIEL, A.L.; KOMMERS, G.D.; MASUDA, E.K. et al. Aspectos clínico-hematológicos e lesões vesicais na intoxicação crônica espontânea por *Pteridium* sp. em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, n.7, p.515- 525, 2009.
- GIERUS, M. Fontes orgânicas e inorgânicas de selênio na nutrição de vacas leiteiras: digestão, absorção, metabolismo e exigências. **Ciência Rural**, v.37, p.1212-1220, 2007.
- GONZÁLES, C.E.; CHAVERA, A.C.; PERALES, R.C. et al. Caracterización de las lesiones encontradas en bovinos con hematuria vesical enzoótica em la Zona de Oxapampa, Pasco. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú**, Lima, v.15, n.1, p.25-36, 2004.
- GONZÁLEZ, F. H. D. Indicadores sanguíneos do metabolismo mineral em ruminantes. In: GONZÁLEZ, F. H. D., BARCELLOS, J. O., OSPINA, H., RIBEIRO, L. A. O. (Eds.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.
- GUERIN, N. Impacto da invasão e mecanismos de regeneração natural do cerrado em áreas ocupadas por *Pteridium arachnoideum* (Kaulf.) Maxon (Dennstaedtiaceae) no sudoeste do estado de São Paulo. **Dissertação de mestrado**. USP campus São Carlos. 2010.
- HERDT, T. H, ET AL., The use of blood analyses to evaluate mineral status in livestock. **Veterinary Clinics of North America**, v. 16, n. 3, p. 423:443, 2000.
- HIRONO I.; SASAOKA I.; SHIBUYA C.; SHIMIZU M.; FUSHIMI K.; MORI H.; KATO K.; HAGA M. Natural carcinogenic products of plant origin. **Gann Monograph on Cancer Research**. v. 17, p. 205-217, 1975.
- HIRONO, I.; AISO, S.; YAMAJI, T.; MORI, H.; YAMADA, K.; NIWA, H.; OJIKI, M.; WAKAMATSU, K.; KIGOSHI, H.; NIIYAMA, K.; UOSAKI, Y. Carcinogenicity in rats of ptaquiloside isolated from bracken. **Gann Monograph on Cancer Research**. v. 75, p. 833-836, 1984.
- HIRONO, I.; OGINO, H.; FUGIMOTO, M.; YAMADA, K.; YOSHIDA, Y.; IKAGAWA, M.; OKUMURA, M. Induction of tumors in ACI rats given a diet containing

- ptaquiloside, a bracken carcinogen. **Journal of the National Cancer Institute**, n. 5, v. 79, p. 1143-1149, 1987.
- HOJO-SOUZA, N. S.; CARNEIRO, C. M.; SANTOS, R. C. DOS. *Pteridium aquilinum*: o que sabemos e o que ainda falta saber. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 5, p. 798–808, 2010.
- HORT, M.A., Disseleneto de difenila: um composto orgânico de selênio com propriedades antiaterogênicas. 115p. **(Dissertação) Doutorado**. Área de concentração: Farmacologia. Curso de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.
- KHONG, H. T. & RESTIFO, N. Natural selection of tumor variants in the generation of “tumor escape” phenotypes. **Nature Immunology**, v. 3, p. 999-1004, 2002.
- KIM, R.; EMI, M. TANEBE, K. Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape. **Immunology**. v.121, n.1, p.1-14, 2007.
- LANGONI, H. Tendências de modernização do setor lácteo: monitoramento da qualidade do leite pela contagem de células somáticas. **Revista educação Continuada CRMV-SP**, v.3, p.57-64, 2000.
- LATORRE, A.O. CANICEIRO, B.D.; WYSOCKI JR, H.L.; HARAGUCHI, M.; GARDNER, D.R.; GÓRNIK, S.L. Selenium reverses *Pteridium* sp.-induced immunotoxic effects. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, p. 464-470, 2011.
- LATORRE, A.O. et al. Immunomodulatory effects of *Pteridium* sp. on natural killer cell activity and select aspects of the cellular immune response of mice. **Journal of Immunotoxicology**, v.6, p. 104-114, 2009.
- LATORRE, A.O. Ptaquiloside reduces NK cell activities by enhancing metallothionein expression, which is prevented by selenium. **Toxicology**, v. 304, p. 100-108, 2013.
- LAWLER, T.L.; TAYLOR, J.B.; FINELY, J.W.; CATON, J.S. Effect of supranutritional and organically bound selenium on performance carcass characteristics, and selenium distribution in finishing beef steers. **Journal of Animal Science**, v.82, p.1488-1493, 2004.
- LE DUC M.G.; PAKEMAN R.J.; PUTWAIN P.D.; MARRS R.H.. The variable responses of bracken fronds to control treatments in Great Britain. **Annals of Botany**, v.85, p.17-29, 2000.

- LUCENA, C.F. Antioxidantes em exercícios aeróbicos: papel do selênio e glutathione peroxidase. **Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte**, v.9, n.1, 2010.
- LUQUE F.G. La cistitis crônica hemorrágica o hematuria esencial de los bovinos en Colombia. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**, n. 23, v.120, p.629-646, 1960.
- MAAS, J., PARISH, S.M., HODGSON, D.R., VALBERG, S.J. Degeneração muscular nutricional. In: ____ SMITH, B.P. **Medicina Interna de Grandes Animais**. 3.ed. São Paulo: Manole, p. 1279- 1282, 2006.
- MARÇAL, W. S. A intoxicação por samambaia em bovinos criados no Estado do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 24, n.1, p. 197-208, 2003.
- MARÇAL, W. S. GASTE, L.; REICHERT NETTO, N. C.; GARGANTINI, M.; FERNANDES, R. P.; MONTEIRO, A. A. Ocorrência de intoxicação aguda em bovinos pela samambaia (*Pteridium* sp., L. Kuhn) no norte do Paraná – Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.22, n.2, p.139-144, 2001.
- MCDOWELL, L.R. **Minerals in animal and human nutrition**. 2.ed. Netherlands: Elsevier Science, 644p., 2003.
- MEIRELLES, R.L. Efeito da suplementação de antioxidantes naturais em tecidos bovinos da raça Brangus. 77 pág. **(Dissertação) Doutorado**. Área de concentração: Qualidade e produtividade animal. Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Zootecnia e engenharia de alimentos da Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.
- MEYDANI, M. Vitamina E. **Lancet**, v. 345, p. 170- 175, 1995
- MOREIRA SOUTO, M.A. KOMMERS, G.D.; BARROS, C.S.L.; PIAZER, J. V.M.; RECH, R.R.; RIET-CORREA, F. SCHILD, A.L. Neoplasias do trato alimentar superior de bovinos associadas ao consumo espontâneo de samambaia (*Pteridium* sp.). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.26, p.112-122, 2006.
- NIDIWENI, N., FINCH, J. M. Effects of in vitro supplementation with a-tocopherol and selenium on bovine neutrophil functions: implications for resistance. **Veterinary Immunology Immunopathology**, v. 51, p. 67-68, 1996.
- NIWA; H.; OJIKI, M.; WAKAMATSU, K.; YAMADA, K.; HIRONO, I., MATSUSHITA, K. Ptaquiloside, a novel norsesquiterpene glucoside from bracken, *Pteridium* sp. var. *latiusculum*. **Tetrahedron Letters** , n. 38, v. 24, p. 4117-4120, 1983.

NUNES, L.C. Aspectos clínico-epidemiológicos da hematúria enzoótica bovina na região sul do Espírito Santo. **Jornal de Olho no Amanhã**, Vitória, p.4-5, 2009.

PAMUKCU A.M.;YALÇIINER S.; HATCHER J.F.; BRYAN G.T., Quercetin, a rat intestinal and bladder carcinogen present in bracken fern (*Pteridium* sp.). **Cancer Research**. v. 40, p.3468-3472. 1980.

RADOSTITIS O.M.; GAY C.C.; BLOOD D.C.; HINCHCLIFF K.W. Veterinary medicine. **A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10a ed. Saunders, Londres, 2065p, 2007.

REID, M.E.; DUFFIELD-LILLICO, A.J.; GARLAND, L.; TURNBULL, B.W.; CLARK, L.C.; MARSHALL, J.R. Selenium supplementation and cancer incidence: An update of the nutritional prevention of cancer trial. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 11, p.1285-1291, 2002.

RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. T. Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: Importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, n. 1, p. 38-42, 2001.

ROSENBERGER, G. 1971. Nature, manifestations, cause and control of chronic enzootic haematuria in cattle. **Revue de Medecine Veterinaire**. v. 2, p. 189-206.

SANTOS, J.E.P. **Efeitos da nutrição na reprodução. Revisão**. Veterinary Medicine Teaching and Research Center, School of Veterinary Medicine, UC-Davis.1999.

SILVA M.A.; SCÁRDUA C.M.; DÓREA M.D.; NUNES L.C.; MARTINS I.V.F.; DONATELE D.M. Prevalência de hematúria enzoótica bovina em rebanhos leiteiros na microrregião do Caparaó, Sul do Espírito Santo, entre 2007 e 2008. **Ciência Rural**, v.39, p. 1847-1850, 2009.

SMITH KL, HARRISON JH, HANCOCK DD, TODHUNTER DA, CONRAD HR. Effect of vitamin E and selenium supplementation on incidence of clinical mastitis and duration of clinical symptoms. **Journal of Dairy Science**, v.67, p.1293-1300, 1984.

SMITH, O.B., AKINBAMIJO, O.O. Micronutrients and reproduction in farm animals. **Animal Reproduction Science**, v. 60, p. 549-560, 2000.

SOUTO, M.A.M.; KOMMERS, G.D.; BARROS, C.S.L. et al. Neoplasmas da bexiga associados à hematúria enzoótica bovina. **Ciência Rural**, v.36, n.5, p.1647-1650, 2006.

SUGIMURA, T. Nutrition and dietary carcinogens. **Carcinogenesis**, v. 21, n. 3, p.387- 395, 2000.

THOMSON MJ; PUNTMANN V; KASKI JC. Atherosclerosis and oxidant stress: the end of the road for antioxidant vitamin treatment? **Cardiovasc Drugs Ther**, v. 21, p.195-210, 2007.

THOMSON, J. A Morphotype and conflicting taxonomies in *Pteridium* (*Dennstaedtiaceae: Pteridophyta*). **Fern Gazette, London**, v. 18, p.101-109, 2008.

THOMSON, J. A. Taxonomic status of diploid southern hemisphere bracken (*Pteridium: Dennstaedtiaceae*). *Telopea*. **Journal of Plant Systematics**, v. 14, p. 43-48, 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, p. 329-336, 1967

TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas tóxicas do Brasil**. Helianthus, 2000.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Poisonous plants affecting livestock in Brazil. **Toxicon**, v. 40, p. 1635–1660, 2002.

TOKARNIA, C.H. DOBEREINER, 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, p.209-224, 1969.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; da SILVA, M.F. Plantas tóxicas da Amazônia bovinos e outros herbívoros. **Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia**, 95p. 1979.

TOKARNIA, C.H.; PEIXOTO, P.V.; DOBEREINER, J. **Plantas Tóxicas do Brasil**. 2a ed. Rio de Janeiro: Helianthus, 2012, 566p.

TROTTER, W. R. Is bracken a health hazard? **The Lancet**, v.336 p.1563–1565, 1990.

UNDERWOOD, E. J., AND N. F. SUTTLE. 1999. In: **The Mineral Nutrition of Livestock** 3rd Ed. CABI Publishing, CAB International, Wallingford, Oxon, UK.

VALLE, C.R. Influência da suplementação de vitamina E nos períodos pré e pós-parto na ocorrência de mastite clínica. Pirassununga: Universidade de São Paulo, 2000. 76p. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia)** - Universidade de São Paulo, 2000.

VAN DER HOEVEN, J. C. M.; LAGERWEIJ, W. J.; POSTHUMUS, M. A.; VAN VELDHUIZEN, A.; HOLTERMAN, H. A. J. Aquilide A, a new mutagen compound isolated from bracken fern (*Pteridium* sp. L. Kuhn). **Carcinogenesis**, Oxford, n. 12, v. 4, p. 1587-1590, 1983.

VETTER, J. A biological hazard of our age: Bracken fern [*Pteridium* sp. (L.) Kuhn]—A review. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 57, n. 1, p.183-196, 2009.

VIRGILIO, A. et al. Ptaquiloside, the major carcinogen of bracken fern, in the pooled raw milk of healthy sheep and goats: an underestimated, global concern of food safety. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 4886-4892, 2015.

WIDDOP B. Separation and characterisation of various toxicological components of bracken. **PhD thesis**, Univ. of Wales, Bangor, 1967.

WILD, D. Influence of macro and micro minerals in the peri-parturient period on fertility in dairy cattle, **Animal Reproduction Science**, 240–249, 2006.

YAMADA, K.; OJIKI, M.; KIGOSHI, H. Ptaquiloside, the major toxin of bracken, and related terpene glycosides: chemistry, biology and ecology. **Natural Products Report**, n. 4, v. 24, p. 798-813, 2007.

APÊNDICE A

Eritrograma dos bovinos cronicamente intoxicados por samambaia (*Pteridium aquillinum*) no Espírito Santo suplementados com selênio

Animais	Eritrócito (X10⁶/mm³)	Hematócrito (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (fl)	CHCM (g/dl)
A1	4	14	5	45,6	27
A2	8	28	8,5	43,3	28
A3	6,3	19	6,5	46,2	31,4
A4	7,6	25	8,2	44,2	33,2
B1	5,3	26	8,4	48	29
B2	6	22	7,8	40	31
B3	6,7	17	5,9	45,5	29
B4	4,2	18	5,9	46,4	35,6
B5	5,2	24	8,1	42,2	27
B6	6	28	8,5	41	24,5
B7	5,2	15	5,8	40	28
C1	4	19	6,5	47,5	34,2
C2	7,8	33	9,5	42,3	28,8
C3	7,1	31	9,5	43,7	30,6
D1	5,3	24	8,3	45,2	34,6
D2	4,5	22	7,5	48,9	34,1
D3	4,2	18	8	45,3	27,8
D4	5,2	26	8,6	46,5	26,7
D5	4,3	20	9	45	25
D6	4,2	18	9,5	40	27