

DIAGNÓSTICO EPIDEMIOLÓGICO Y CLÍNICO DE LA HEMATURIA ENZOÓTICA BOVINA EN LA PROVINCIA BOLÍVAR, ECUADOR

EPIDEMIOLOGICAL AND CLINICAL DIAGNOSIS OF BOVINE ENZOOTIC HEMATURIA IN THE BOLÍVAR PROVINCE, ECUADOR

Ángela Calderón Tobar⁽¹⁾; Evangelina Marrero Faz⁽²⁾; Carlos Bulnes Goicochea⁽³⁾; José Silva⁽⁴⁾.

¹Universidad Estatal de Bolívar, Av. Che Guevara S/N y Gabriel Secaira, Guaranda, Ecuador.
www.ueb.edu.ec, acalderon@ueb.edu.ec.

²Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

³Universidad Agraria de La Habana, Facultad de Medicina Veterinaria, Autopista Nacional y Carretera de Tapaste, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

⁴Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca (MAGAP-G). Guaranda, Ecuador.

Resumen: Existen plantas tóxicas que al ser ingeridas por los animales comprometen seriamente la salud de estos, causando cuadros clínicos de intoxicaciones que no siempre se manifiestan de manera repentina, sino causando intoxicaciones crónicas. En la Provincia Bolívar, existían indicios no avalados científicamente de casos remitidos para el diagnóstico clínico veterinario de animales con “sangre en la orina” y áreas de pastoreo invadidos por helechos, que hicieron sospechar de la Hematuria Enzoótica Bovina (HEB), por lo tanto se requería diagnosticar la entidad y estudiar la magnitud del problema, constituyéndose el problema de la investigación. El estudio desarrollado ofrece resultados científicos sobre los factores de riesgo y diagnóstico clínico de la HEB, demostrándose que la intoxicación crónica es causada por la ingestión reiterada de *Pteridium arachnoideum* (Kaulf.) Maxon que invaden los pastizales entre el 60 y 100 %, evidenciándose que la hematuria y las muertes, están asociadas a esta planta, con un Odds ratio de 19,55 y 6,77 y prevalencia de 8,7 %. Los resultados clínicos, denotaron la presencia de hematuria con una prevalencia del 71,8% y anemia crónica en correspondencia a la severidad del grado de hematuria.

Palabras claves: Hematuria Enzoótica Bovina, toxicosis por plantas, *Pteridium arachnoideum*, ptaquilósido.

Abstract: There are toxic plants that after being ingested by animals it seriously compromises their health, causing clinical symptoms of poisoning, that do not always manifest immediately but instead causing chronic poisoning. In the Bolívar Province, there are indications not scientifically supported of cases referred clinical diagnosis of a veterinarian of animals with “blood in urine” and pasturelands invaded by ferns, that made suspect the Bovine Enzootic Hematuria (BEH) therefore, it was required to diagnose the entity and study the magnitude of the problem, constituting the problem of this study. The study provides with scientific results on risk factors, and clinical diagnoses of BEH, proving that chronic poisoning is caused by repeated ingestion of *Pteridium arachnoideum* (Kaulf.) Maxon invading grasslands between the 60 and 100%, Showing that hematuria and deaths are associated with this plant, with an odds ratio of 19.55 and 6.77 and prevalence of 8.7%.

Keywords: Bovine Enzootic Hematuria, plants toxicosis, *Pteridium arachnoideum*, ptaquilósido.

Recibido: 06 marzo 2014

Aceptado: 09 mayo de 2014

Publicado como artículo científico en Revista de Investigación Talentos 2 (1) 1-12

I. INTRODUCCIÓN

La necesidad de alimentos de origen animal para satisfacer los requerimientos nutricionales del hombre, no solo demanda del incremento en cantidad y calidad nutritiva de estos a partir de una explotación comercial correcta de las especies animales involucradas, si no también se tenga presente en estas crianzas la ingestión de alimentos seguros, desprovistos de sustancias nocivas para los propios animales y consecuentemente para la salud humana. El interés creciente por el conocimiento de los tóxicos naturales, ha cobrado fuerza en la actualidad y constituye, hoy en día, uno de los aspectos más relevantes de la toxicología veterinaria moderna que ocupa la atención de numerosos productores, científicos, docentes, personal de la salud humana y directivos de las instituciones regulatorias. Existen plantas que al ser ingeridas de manera directa por los animales y el hombre, pueden comprometer seriamente la salud de estos, causando cuadros clínicos de intoxicaciones que no siempre se manifiestan de manera repentina (tóxicosis aguda), sino de una forma más solapada, produciendo daños a más largo plazo, esto es causando cuadros clínicos de tóxicosis crónicas (Marrero, 2008; Marrero *et al.* 2010).

Por otra parte, muchos compuestos químicos que se encuentran presentes en las plantas pueden afectar la salud humana por su ingestión a través de la cadena alimentaria, al consumir productos procedentes de animales como carne, leche y huevos, por lo que resulta un aspecto de vital importancia a tener en cuenta en la calidad de estos alimentos (Alonso-Amelot y Avendaño, 2002; Rasmussen *et al.* 2012; Rasmussen *et al.* 2013).

Desde el punto de vista económico, las pérdidas por plantas tóxicas en los animales, han resultado millonarias para países de gran desarrollo ganadero como por ejemplo Australia y Estados Unidos de Norteamérica (Vetter, 2009; Fletcher *et al.* 2011). Así como en otros países de diferentes continentes, sobre todo, en los de mayor exuberancia en la flora y donde existen crianzas animales extensivas, como es el caso de América Latina y el Caribe (Marrero *et al.* 2004; Riet-Correa *et al.* 2009). No obstante, muchas veces

se desconoce el alcance de la real pérdida por este concepto, resultando también en los países más pobres un grave problema de índole social, por ser la ganadería vacuna, en algunas regiones de este continente, el principal sostén familiar.

En este orden de ideas se ha reportado la invasión de helechos tóxicos correspondiente a la especie *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn (internacionalmente conocida en idioma inglés por *bracken fern* o simplemente *bracken*) que afecta negativamente la crianza animal vacuna en diferentes regiones ganaderas del mundo y en particular de América Latina (Gomes *et al.* 2012; Sharma *et al.* 2013; Rasmussen *et al.* 2013), de ahí que los animales que consumen la planta resultan intoxicados de forma aguda o crónica en dependencia de la exposición al tóxico.

Dentro de las entidades clínicas tóxicas atribuidas a la ingestión de este helecho en animales de granja es la Hematuria Enzoótica Bovina (HEB), la que más profundamente se ha estudiado. Esta entidad ha sido definida como una enfermedad mortal de curso crónico que se acompaña de neoplasias malignas en la vejiga urinaria, la cual se debe al consumo reiterado de helechos de *P. aquilinum* (*bracken*), contenido del compuesto carcinogénico ptaquilósido, por parte de los rebaños vacunos expuestos al pasto contaminado con dicha planta (Smith y Seawright, 1995; Riet-Correa *et al.* 2009). La HEB ha sido informada en varios países del mundo y en Latinoamérica que abarcan variadas regiones ganaderas con geografía más bien montañosa frecuentemente asociadas a selvas tropicales del sur y centro América, con énfasis en zonas andinas (Sánchez-Villalobos *et al.* 2004; Riet-Correa *et al.* 2009; Sánchez-Villalobos *et al.* 2010).

La magnitud del problema de la gran distribución de la planta tóxica asociada a la HEB, en esas regiones, representa serias afectaciones al desarrollo de la ganadería vacuna. Se señala que para prevenir las pérdidas económicas muchos campesinos envían a los animales con estas condiciones al matadero, antes de que se produzca el rápido deterioro de estos. De ahí que la problemática existente es muy preocupante no solo en términos de la salud del rebaño, sino que detrás de ello están en riesgo los consumidores al inge-

rir los productos alimenticios, que forman parte de la dieta básica de la población, contaminados con el tóxico ptaquilósido.

Estos antecedentes, más la presencia de bovinos con cuadros clínicos de “sangre en orina”, áreas de pastoreo invadidas por helechos, afectación de la producción en estas áreas, entre otros aspectos, hicieron sospechar con fuerza que la HEB está presente en estas zonas ganaderas, por lo tanto se requería diagnosticar la entidad y estudiar la magnitud del problema, como base para la toma de acciones que contribuyan a mitigar la gravedad del proceso.

II. METODOLOGÍA

A. Ubicación geográfica donde se efectuó la investigación

La investigación se desarrolló en fincas ganaderas de pequeños productores ubicadas en los Cantones de San Miguel, Chimbo y Echeandía de la Provincia Bolívar, Ecuador desde septiembre de 2010 a agosto de 2012. La Provincia Bolívar está situada en el Centro-Oeste del Ecuador. Limita al Norte con la Provincia de Cotopaxi, al Sur con la Provincia del Guayas, al Este con las Provincias de Tungurahua y Chimborazo y al Oeste con la Provincia de los Ríos. Es la Provincia más pequeña del Ecuador con una extensión total de 3559 Km². Posee la variedad de pisos climáticos existentes en la región interandina; es decir comenzando por el tropical monzón, pasando por el mesotérmico húmedo y semihúmedo, hasta el páramo de las altas mesetas andinas, comparten zonas con temperaturas frías a subtropicales que oscilan entre los 8 °C a 25 °C; altitud general desde los 300 m.s.n.m., hasta los 2668 m.s.n.m. La producción agropecuaria es la base económica de los Cantones de la provincia; en la ganadería sobresalen la bovina y la porcina, la primera tiene un menor volumen de producción y está orientada a la producción de ganado de carne y leche. (Gobierno provincial de Bolívar, 2014).

B. Estudio epidemiológico

1. Encuestas

Para el estudio epidemiológico se realizó una encuesta a todos los miembros (N= 57) de las asociaciones ganaderas de los cantones de San Miguel, Chimbo y Echeandía para el análisis de síntomas clínicos y muertes acompañado de hematuria en los bovinos (N=2267) con algunos posibles factores de riesgo asociados a la ingestión de helechos del Género *Pteridium* y características de producción.

2. Identificación botánica y estimado del grado de la presencia de *Pteridium spp* en los pastos.

Se tomaron muestras de helechos de *Pteridium spp.*, las que fueron herborizadas y llevadas al Herbario de la Pontificia Universidad Católica de Ecuador y del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Cuba para su identificación botánica. Para valorar el grado de la presencia de los helechos en los pastos de las fincas afectadas (N= 57), se empleó la escala establecida por Braun Blanquet (1979) agrupando por clases de acuerdo al porcentaje (%) de presencia de la especie en estudio.

3. Georeferenciación

En cada una de las fincas (N=57), se tomaron datos de altitud y coordenadas satelitales con el equipo GPS map 60 CSx, mediante el sistema WGS 84 y se georeferenció mediante el Sistema de Información Geográfica ArcGIS 9.3.1.

C. Estudio clínico

Para este estudio participaron 27 fincas, donde se realizó inspección clínica, muestreo de orina y sangre (n=74) equivalente al 13 % de la masa total (N=554), bovinos machos y hembras de diferentes edades, doble propósito, mestizos, predominando el cruce *Brahman* con *Brown-Swiss*.

Se realizó muestreo general para la detección de enfermedad según metodología de Mateu y Casal, 2003 (con la finalidad de saber si la enfermedad existe o

no en una población, independientemente si hay mucha o poca), se utilizó la siguiente fórmula:

$$n = [1 - (1 - a)^{1/D}] \times [N - (D - 1)/2]$$

Dónde: **n**= tamaño de la muestra
a= nivel de confianza (95 %)
D= número de animales enfermos en la población. (10 %)
N= tamaño de la población (2267)

La aplicación de esta fórmula presupone que en caso de estar presente la enfermedad en una población, ésta presentará una prevalencia mínima.

$$n = [1 - (1 - 0,95)^{0,044}] \times [2267 - (226 - 1)/2] n = 28$$

1. Inspección Clínica del rebaño

Se realizó inspección clínica general del rebaño para ver el estado de carne, presencia de hematuria, examen de las mucosas conjuntivales, toma de la temperatura rectal y actitud del animal.

2. Toma de muestras de orina

Para determinar sangre en la orina (hematuria), se utilizó la técnica de tiras reactivas, (Sánchez-Villalobos *et al*, 2006). Se realizó la recolección (10 mL) en tubos de vidrio con tapa rosca estériles a través de micción espontánea en las primeras horas de la mañana y se procesó *in situ* con tiras reactivas (COMPER-TEST®, 10SL de Analyticon Biotechnologies, Alemania, distribuido en Ecuador por IMPROLAB S.A). Estas muestras fueron así mismo conservadas en frío (4 °C) para realizar el examen microscópico del sedimento urinario por centrifugación a 3000 rpm durante 5 minutos y microscopio de luz con objetivo 40X, en el laboratorio clínico de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Estatal de Bolívar.

3. Toma de muestras de sangre

Para los análisis hematológicos se colectaron 5 mL de sangre de la vena coxígea los que se depositaron en tubos IDEXX VetTube™ (IDEXX LABORATO-

RIES VetLAB® USA) conteniendo Etilen-Diamino-Tetra-Acetato de Sodio (EDTA) (1 mg/mL de sangre), previamente tapados y esterilizados. Para la determinación de hemoglobina, hematocrito, conteo total de eritrocitos, los índices hematimétricos o constantes corpusculares (VCM, CHCM) y conteo total de leucocitos, se utilizaron por cada parámetro 111 µL de sangre, realizándose las determinaciones en un analizador IDEXX VetAutoread™, (IDEXX LABORATORIES VetLab® USA), según los procedimientos del fabricante. También se realizó frotis sanguíneo para evidenciar la posible presencia de hemoparásitos: *Babesia bovis* y *Anaplasma marginale*. Todos los análisis fueron realizados en el laboratorio clínico de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Estatal de Bolívar, Guaranda, Ecuador.

4. Procesamiento estadístico de los resultados

Se emplearon las pruebas estadísticas de X², comparación de medias por T de Student. Se consideró el valor de p < 0,05 para definir las diferencias. Para evaluar el análisis cualitativo de la orina mediante tiras reactivas como método diagnóstico de la presencia de sangre en este material biológico, se utilizó el método de pruebas diagnósticas; para los parámetros hematológicos se calcularon los estadígrafos descriptivos y se compararon entre los diferentes grados de hematuria (tiras reactivas) mediante un análisis de varianza de clasificación simple (ANOVA), comparándose las medias en los casos en que se encontraron diferencias estadísticas mediante la prueba de Bonferroni para un nivel de confianza del 95%, previa comprobación de la homogeneidad de varianza. En este procesamiento se empleó el paquete estadístico Statgraphics Centurion ver. XVI (Statistical Graphic Corp., USA) del 2006.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El resultado del análisis de las encuestas para el factor de riesgo entre la presencia del helecho *Pteridium* spp con lo reportado por los productores de la presencia de “sangre en la orina” (hematuria), fue significativo p = 0,023, con un Odds ratio = 19,55. Este estudio pone de manifiesto que existe 19,55 veces más posibilidad que se produzca la hematuria en los bovinos

cuando hay presencia de helechos en los pastizales que cuando no los hay. (Figura. 1).

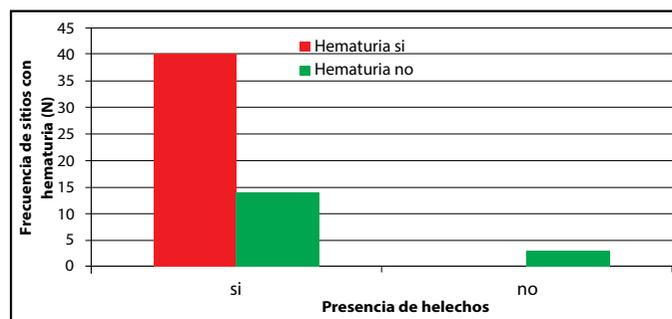


Fig. 1. Frecuencia de sitios informados con casos de hematuria y la presencia de *Pteridium* spp., en zonas ganaderas de los Cantones de San Miguel, Chimbo y Echeandía, de la Provincia Bolívar- Ecuador. Odds ratio (OR) = 19,55, IC (95%)= 1,65-401,95, p= 0,023.

Estos hallazgos orientan a pensar con más fuerza la existencia en estas zonas ganaderas de la entidad clínica reconocida como Hematuria Enzoótica Bovina (HEB) la que se caracteriza por la ocurrencia de tumores de la vejiga urinaria acompañada de hematuria (Carvalho, 2006) causada por la ingestión crónica de *Pteridium* spp siendo la única planta que se reconoce que produzca cáncer en los animales de forma natural (Smith *et al.* 2004; Panter *et al.* 2007).

Los resultados de las encuestas referentes a la relación existente entre las muertes de los bovinos con hematuria y la presencia de helechos, fue significativo p= 0,031 con un Odds ratio= 6,77, lo que expresa que existe 6,77 veces la posibilidad de ocurrencia de las muertes de los bovinos con hematuria cuando están expuestos a la presencia de helechos que cuando no lo están, sin embargo el Odds ratio resulta bajo. Esto tiene explicación en el sesgo de las respuestas de los productores los que declaran menos muertes del rebaño por esta causa, al enviar los animales afectados de hematuria al matadero antes de que el curso clínico de la intoxicación avance hacia la depauperación y posterior muerte. (Figura 2).

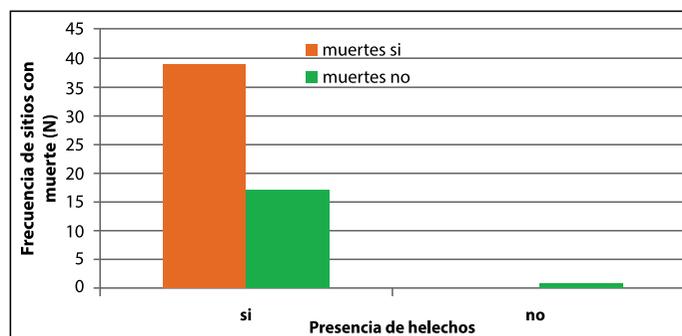


Fig. 2. Frecuencia de sitios informados con casos de muertes con hematuria y la presencia de *Pteridium* spp., en zonas ganaderas de los Cantones de, San Miguel, Chimbo y Echeandía de la Provincia Bolívar-Ecuador. Odds ratio (OR) = 6,77 IC (95%)= 0,89-174,58, p= 0,031.

Dado que la intoxicación por el consumo de helecho *Pteridium* spp es causante directa de lesiones tumorales que evolucionan a la malignidad, el curso clínico de la HEB es fatal (cáncer de vejiga urinaria), por lo que es de esperar una alta mortalidad en los rebaños expuestos al consumo reiterado de la planta tóxica (Riet-Correa *et al.* 2009). De ahí la importancia de realizar estudios confirmativos en los mataderos, donde los productores tributan sus animales con hematuria antes que estos mueran inevitablemente, evitando no ser perjudicados en la economía y sustento familiar.

Los resultados de prevalencia de bovinos con hematuria a partir de las encuestas fue de 8,7 % y los casos de muerte asociada a esta fue de 9,8 %, siendo similares a los obtenidos por otros autores trabajando en zonas andinas subtropicales de Bolivia, los que llegaron a un diagnóstico de la HEB con una prevalencia 7,8 y 10, 6 % respectivamente (Marrero *et al.* 2001).

Las muestras de helechos tomadas de zonas ganaderas afectadas con hematuria, se identificaron como *Pteridium arachnoideum* (Kaulf.) Maxon (que antes era conocido como *Pteridium aquilinum* sub-especie *arachnoideum*). Así mismo se reconoce que en Ecuador existe solamente esta especie de *Pteridium*, según certificado de identificación botánica, emitido por el Dr. Hugo Navarrete Zambrano, Director del Herbario QCA de la Pontificia Universidad Católica

del Ecuador y por la Ing. Iris Palenzuela.Páez, investigadora del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) Cuba. (Figuras 3 y 4).



Fig. 3. Pteridium arachnoideum (Kaulf.) Maxon

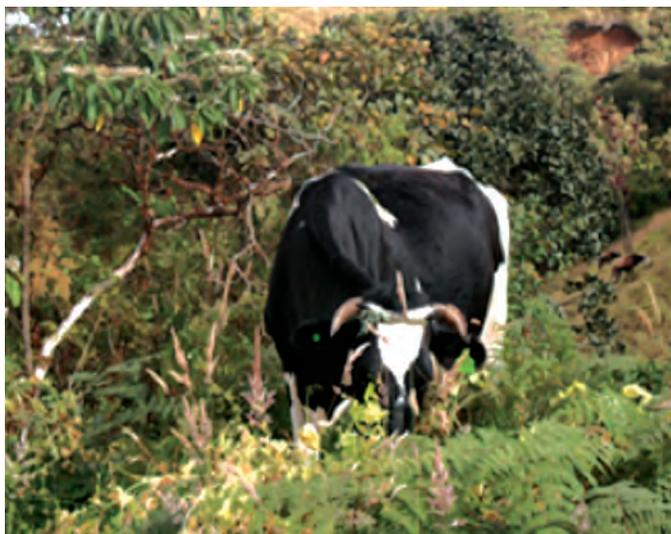


Fig. 4. Pteridium arachideum (Kaulf.) Maxon. Invadiendo zonas ganaderas en los Cantones de San Miguel, Chimbo y Echeandía de la Provincia Bolívar- Ecuador.

La relación entre el grado de presencia de *Pteridium arachnoideum* en zonas ganaderas afectadas con hematuria es directamente proporcional, ya que se observa que existe linealidad entre ellos ($p= 0.0031$), a medida que es mayor la invasión de los pastos con

los helechos, resulta mayor la cantidad de fincas ganaderas afectadas con hematuria (Figura 5).

El grado de presencia de los helechos en las áreas afectadas con hematuria fue determinado entre un 60 y 100 % lo que denota una alta invasividad de la planta *P. arachnoideum*, contentiva del tóxico ptaquilósido (Favela-Camacho *et al.* 2001; Oliveira *et al.* 2007; Marrero *et al.* 2010), el cual es responsable de cuadros clínicos de Hematuria Enzoótica Bovina (Marcal, 2003; Masuda *et al.* 2011).

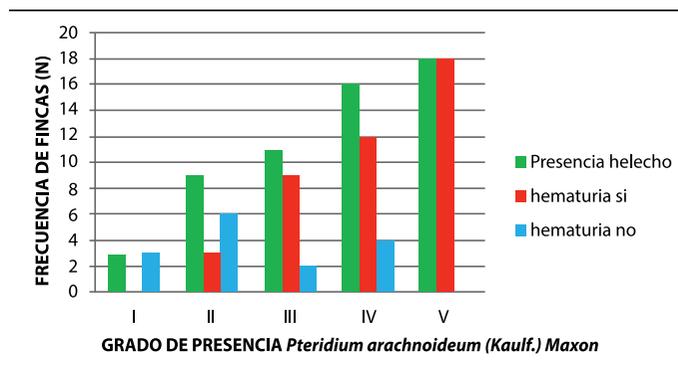


Fig. 5. Frecuencia de fincas y grado de presencia de *P. arachnoideum* en zonas ganaderas afectadas con hematuria en los Cantones de San Miguel, Echeandía y Chimbo de la Provincia Bolívar- Ecuador. Tendencia lineal. $p<0,0031$.

Mediante la georeferenciación de las zonas ganaderas afectadas con hematuria, se observó un número elevado de fincas con una alta contaminación de *Pteridium arachnoideum* en los Cantones de San Miguel, Chimbo y Echeandía. La altitud de las fincas en San Miguel estuvieron entre 2210 y 1160 m.s.n.m., las fincas de Echeandía entre 1570 y 389 m. s. n. m y las fincas de Chimbo se encontraron entre 1589 y 1103 m. s. n. m. Así mismo, las fincas más afectadas se encontraron mayoritariamente en zonas subtropicales y colindantes con zonas de transición a un clima más frío que la temperatura oscila entre 8 °C a 22°C (Figura 6).

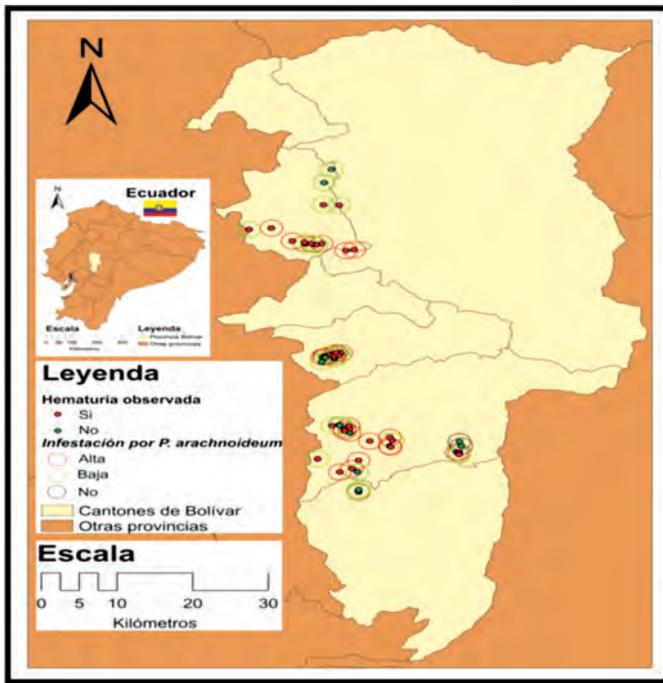


Fig. 6: Localización geográfica de las fincas ganaderas afectadas con hematuria y el grado de presencia de *Pteridium arachnoideum* en los Cantones de San Miguel, Chimbo y Echeandía de la Provincia Bolívar-Ecuador.

La inspección clínica general del rebaño, denotó que los animales se encontraban en condiciones favorables de carne, excepto aquellos que aún no habían sido enviados al matadero y permanecían en el rebaño por mucho tiempo (más de 12 meses) eliminando sangre en la orina (hematuria), denotando debilidad y caquexia, idénticos a los encontrados en la HEB por otros autores (Pamukcu *et al.* 1976; Marrero *et al.* 2004). Así mismo los animales afectados y no afectados se encontraban afebriles, con mucosas aparentes que iban de normo a hipo coloreadas, sin íctero, actitud y rumia aparentemente normales, similares a los descritos por (Aparecida da Silva *et al.* 2009), no observándose otros signos clínicos de interés diagnóstico. (Figura 7 A y B).



Fig. 7 (A y B). Vacas con signos clínicos de hematuria, de corta evolución (A); de larga evolución (B).

Los resultados del diagnóstico de la hematuria en 74 bovinos procedentes de las zonas ganaderas de San Miguel, Chimbo y Echeandía de la Provincia Bolívar- Ecuador, utilizando tiras reactivas para determinar sangre en la orina, evidenciaron hematuria clínica en el 33,78 % de las muestras y hematuria subclínica (sangre oculta en la orina) en el 37,84 % (Tabla 1). Este resultado fue corroborado con el examen microscópico del sedimento urinario (Tabla 2).

TABLA I

DIAGNÓSTICO DE LA HEMATURIA, BASADO EN TIRAS REACTIVAS, EN BOVINOS PROCEDENTES DE LOS CANTONES DE SAN MIGUEL, CHIMBO Y ECHEANDÍA DE LA PROVINCIA BOLÍVAR, ECUADOR.

Cantones	Tiras reactivas (grados de hematuria)					Total muestras
	Neg.	+	++	+++	++++	
San Miguel	7	3	4	8	12	34
Chimbo	6	0	0	3	8	17
Echeandía	8	4	4	2	5	23
TOTAL	21	7	8	13	25	74
%	28,38	37,84			33,78	100

TABLA II

DIAGNÓSTICO DE LA HEMATURIA, BASADO EN EL SEDIMENTO URINARIO, EN BOVINOS PROCEDENTES DE LOS CANTONES DE SAN MIGUEL, CHIMBO Y ECHEANDÍA DE LA PROVINCIA BOLÍVAR, ECUADOR.

Cantones	Examen microscópico del sedimento (Hemáties / campo)					Total muestras
	Neg.	+	++	+++ Campo lleno	++++ incontables	
	0-3	4-12	13-40	41-60	>61	
San Miguel	7	3	4	8	12	34
Chimbo	6	0	0	3	8	17
Echeandía	7	5	4	2	5	23
Total	20	8	8	13	25	74

TABLA III

SENSIBILIDAD, LA ESPECIFICIDAD Y EL VALOR PREDICTIVO Y OTROS INDICADORES DEL DIAGNÓSTICO DE LA HEMATURIA BASADO EN LA UTILIZACIÓN DE LAS TIRAS REACTIVAS

Prueba diagnóstica	Prueba de referencia		total
	Enfermos	Sanos	
Positivo	52	1	53
Negativo	1	20	21
Total	53	21	74

Indicador	valor (%)	IC (95%)
Sensibilidad	98,11	93,51-100,00
Especificidad	95,24	83,75-100,00
Índice de validez	97,30	92,93-100,00
Valor predictivo positivo	98,11	93,51-100,00
Valor predictivo negativo	95,24	83,75-100,00
Prevalencia	71,62	60,67-82,57
Índice de Youden	0,93	0,84- 1,03
Razón de verosimilitud +	20,60	3,04-139,57
Razón de verosimilitud -	0,02	0,00-0,14

Estos resultados demuestran que el método de tiras reactivas y el examen microscópico del sedimento urinario, poseen similar valor diagnóstico para detectar la hematuria y constituyen una herramienta diagnóstica de suma importancia en la entidad objeto de estudio, lográndose detectar también casos subclínicos por lo que la entidad clínica alcanzó una prevalencia alta (71,62 %) en los tres Cantones, lo cual pone de manifiesto la gravedad del proceso tóxico sospechado, utilizando estos métodos.

Con referencia a los resultados obtenidos en el hemograma de animales portadores y no portadores de hematuria, y comparándolos con los resultados de las tiras reactivas en el uroanálisis, se observó que los valores promedios de Hematocrito (Hcto), Hemoglobina (Hb) y Conteo Eritrocitario Total (CET) decrecieron en la misma medida en que se incrementó el grado de hematuria, siendo significativos entre ellos ($p < 0,05$) demostrándose una clara propensión hacia el desarrollo de anemia. (Tabla 4). Siendo similares a los obtenidos por otros autores en animales portadores de HEB (Sánchez- Villalobos *et al.* 2004; Singh, 2007; Aparecida da Silva *et al.* 2009).

El análisis estadístico de prueba diagnóstica por el método de las tiras reactivas empleado, mostró una sensibilidad diagnóstica del 98,11 %, lo que demuestra la capacidad de detectar los animales que verdaderamente están enfermos. Una especificidad de 95,24 % lo cual indica la probabilidad de que el diagnóstico clínico de la hematuria basado en la utilización de tiras reactivas posee la capacidad de detectar como animales sanos a aquellos que verdaderamente lo están (Tabla 3). Estos resultados coinciden con los reportados por otros autores (Favela-Camacho *et al.* 2001; Peña *et al.* 2001 y Sánchez- Villalobos *et al.* 2006).

TABLA IV
RELACIÓN ENTRE EL GRADO DE HEMATURIA, MEDIANTE TIRAS REACTIVAS Y LOS VALORES DE LA HEMOGLOBINA, EL HEMATOCRITO Y EL CONTEO DE ERITROCITOS TOTALES DE BOVINOS PROCEDENTES DE LOS CANTONES DE SAN MIGUEL, CHIMBO Y ECHEANDÍA DE LA PROVINCIA BOLÍVAR. (X ± SD).

Grado de hematuria (cruces)	Hb (g/dL)	Hcto (L/L)	CET (10 ¹² L)
0 (negativo)	105,37 ± 7,23 ^a	0,32 ± 0,02 ^a	3,81 ± 0,23 ^a
1 (+)	95,84 ± 5,17 ^{ab}	0,29 ± 0,01 ^{ab}	3,50 ± 0,15 ^b
2 (++)	95,56 ± 4,86 ^{ab}	0,29 ± 0,01 ^b	3,48 ± 0,16 ^b
3 (+++)	88,32 ± 5,35 ^b	0,27 ± 0,01 ^b	3,28 ± 0,14 ^b
4 (++++)	77,61 ± 11,06 ^c	0,23 ± 0,03 ^c	3,00 ± 0,31 ^c

(a,b y c) Valores promedios con letras no comunes en el superíndice de la misma columna indican diferencias estadísticas. $p < 0,05$. (Bonferroni). Abreviaciones: **Hb** = Concentración de Hemoglobina; **Hcto**= Hematocrito; **CET**= Contaje eritrocitario total.

Siempre que sea posible deberá identificarse la causa de la anemia, porque el término anemia por sí solo no constituye un diagnóstico definitivo, la cual puede ser clasificada según el tamaño del volumen corpuscular medio (VCM) y concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) del eritrocito (Ducan y Prasse's, 2003). En los resultados de VCM hubo diferencias ($p < 0,05$) entre los grados de hematuria, sin afectar los valores normales para la especie (Cuesta *et al.* 2007), no apreciándose ningún cambio significativo en el valor CHCM. Todo lo cual sugiere que los animales con grado 4 (++++) de hematuria presentaron anemia normocítica normocrómica (Tabla 5).

TABLA V
RELACIÓN ENTRE EL GRADO DE HEMATURIA MEDIANTE TIRAS REACTIVAS Y LOS VALORES DE LAS CONSTANTES CORPUSCULARES DE BOVINOS PROCEDENTES DE LOS CANTONES DE SAN MIGUEL, CHIMBO Y ECHEANDÍA DE LA PROVINCIA BOLÍVAR.

Grado de hematuria (cruces)	VCM (10 ⁻¹⁵ L)	CHCM (g/L)
0 (negativo)	85,50 ± 1,62 ^a	322,60 ± 5,40 ^a
1 (+)	84,64 ± 1,14 ^a	322,54 ± 8,23 ^a
2 (++)	84,90 ± 1,28 ^a	322,57 ± 5,21 ^a
3 (+++)	83,37 ± 1,60 ^{ab}	322,52 ± 6,12 ^a
4 (++++)	80,83 ± 2,82 ^b	319,26 ± 18,66 ^a

(a y b) Valores promedios con letras no comunes en el superíndice de la misma columna indican diferencias estadísticas. $p < 0,05$. (Bonferroni). Abreviaciones: **VCM**= Volumen corpuscular medio; **CHCM**= Concentración de hemoglobina corpuscular media.

Los resultados ya descritos anteriormente, evidencian disminución en los niveles hematológicos (Hb, Hcto y CET), lo que demuestra la presencia de anemia producto a la pérdida de sangre persistente y crónica a través de la orina producto a neoplasias malignas en la vejiga por la ingestión reiterada de *P. aquilinum* (Gonzales *et al.* 2004), en nuestro caso por *Pteridium arachnoideum* (Kaul.) Maxon que invaden las zonas ganaderas de estos Cantones; lo que también supone la existencia de un daño grave a nivel de la vejiga urinaria en estos animales que es la causa primaria que ocasiona el sangramiento crónico urinario, el que puede ser permanente o intermitente según se ha señalado por otros autores (Carvalho *et al.* 2006; Jubb *et al.* 2009).

Por otra parte, los resultados de los leucocitos totales, evidenciaron una leve disminución en correspondencia con el grado de hematuria ($p < 0,05$), sin llegar a producir alteración en los valores normales para la especie (Cuesta, *et al.* 2007), (Figura 8).

La anemia podría explicarse por la pérdida de sangre en la orina, no obstante la depresión de algunos elementos del cuadro leucocitario podría tener más relación con la afectación de la médula ósea por parte del tóxico (Wosiacki *et al.* 2006), de ahí que en el cuadro de hematuria Enzoótica Bovina además de las lesiones tumorales malignas está presente el daño a otros sitios de la economía del animal lo cual complica el curso clínico y severidad de la intoxicación.(Marrero *et al.* 2001; Carvalho *et al.* 2009).

Un comportamiento similar del cuadro hemático se ha reportado por diferentes autores en Latinoamérica y el mundo (Mengi *et al.* 2001; Sánchez- Villalobos *et al.* 2004; Sánchez- Villalobos *et al.* 2006; Singh, 2007), lo cual pone de manifiesto la importancia de considerar el diagnóstico hematológico y de uroanálisis.

lisis a la hora de abordar de forma integral el diagnóstico clínico de la HEB.

(a y b) Valores promedios con letras no comunes en el superíndice indican diferencias estadísticas $p < 0,05$. (Bonferroni).

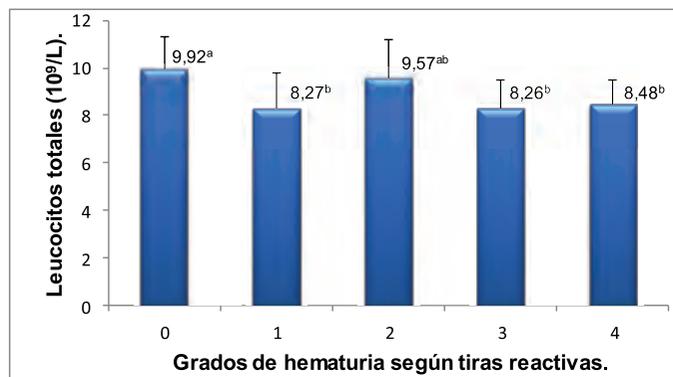


Fig. 8. Relación entre el grado de hematuria y Leucocitos totales de bovinos procedentes de los Cantones de San Miguel, Chimbo y Echeandía de la Provincia Bolívar. ($X \pm SD$).

Las muestras de sangre examinadas para evidenciar hemoparásitos, arrojaron resultados negativos a *Anaplasma marginale* y *Babesia bovis*. No obstante se conoce que esta entidad cursa en forma de brotes, acompañada de fiebre y anemia hemolítica la que ocasiona orinas teñidas de color ámbar (Jubb *et al.* 2009), diferentes al proceso de la HEB. Por otra parte se acostumbra en estas zonas ganaderas a aplicar desparasitaciones contra las garrapatas. Otras enfermedades infectocontagiosas concomitantes que cursan con orinas rojizas, como la Leptospirosis, la Hemoglobinuria Basilar Bovina entre otras, no se consideró como causa de la entidad objeto de estudio en esta investigación al no corresponderse las mismas con el curso y características clínicas descritas para la HEB. Además es importante establecer el diagnóstico diferencial entre hematuria en el que se observa la formación del sedimento urinario y la hemoglobinuria en la que no se forma el sedimento urinario (Marcal, 2002), siendo la hematuria característico en la HEB (Blanco, 2012).

IV CONCLUSIONES

Se demostró la presencia de la Hematuria Enzootica Bovina, en las zonas ganaderas de la Provincia Bolívar, Ecuador, evidenciado por los indicadores epidemiológico y clínico, confirmándose que la entidad es causada por la ingestión reiterada de *Pteridium arachnoideum* (Kaulf.) Maxon, puntualizándose las características particulares de la intoxicación en esta zona geográfica.

V BIBLIOGRAFÍA

- Alonso-Amelot, ME and Avendaño, M. (2002). Human carcinogenesis and bracken fern: a review of the evidence. *Curr Med Chem.* 9(6): 675-686.
- Aparecida da Silva, M., Scardua, CM., Dorea, MD., Carvalho, NL., Martins, IVF. and Donatele, DM. (2009). Prevalence of bovine enzootic haematuria in dairy cattle in the Caparaó microregion, southern Espírito Santo, between 2007 and 2008. *Ciencia Rural, Santa Maria* 39:1847–1850.
- Blanco, MF. (2012). Valores analíticos de ganado vacuno en régimen extensivo expuesto al consumo de helechos. *Research Notes.* 916. <http://www.science-direct.com/science?>
- Braun, Blankuet. (1979). *Fitosociología. Bases para el estudio de las comunidades vegetales.* H. Blume Ediciones. Madrid. 820 pp
- Carvalho, T., Pinto, C. and Peleteiro, MC. (2006). Urinary bladder lesions in bovine enzootic haematuria. *J Comp Pathol* 134:336–346.
- Carvalho, T., Naydan, D., Nunes, T., Pinto, C. and Peleteiro, M. (2009). Immunohistochemical evaluation of vascular urinary bladder tumors from cows with enzootic hematuria. *Veterinary Pathology Online.* 46(2): 211-221.
- Cuesta, M., Montejo, E., Duvergel, J. (2007) .*Medicina Interna Veterinaria. Tomos I y II.* La Habana: Editorial Félix Varela. Ministerio de Educación Superior. ISBN 978-959-07-0497-0 Tomo I. ISBN 978-959-07-0498-7 Tomo II. 978-959-07-0549-6. Obra completa
- Duncan and Prasse's. (2003). *Manual de prácticas de Patología Clínica Veterinaria.* Cuarta edic. Lona State Press. pg. 30-35.

- Favela-Camacho, JR., Aufrán, M. and Sotomayor, M. (2001) Haematuria: Evaluación de 134 pacientes. *Rev. Mex. Urol.* 61(1):11-15.
- Fletcher, MT., Reichmann, KG., Brock, I J., McKenzie, R A. and 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.
- Gobierno Provincial de Bolívar: Situación Geográfica. [en línea] <http://www.gobiernodebolivar.gob.ec/2014>. [Consultado: 06/20/2014].
- Gonzáles, CE., Chavera, A., Perales, R., Falcón, N. and Evaristo, R. (2004). Caracterización de las lesiones encontradas en bovinos con hematuria vesical enzoótica en la zona de Oxapampa, Pasco. *Rev. invest. vet. Perú.* 15(1): 25-36.
- Gomez, J., Magalhães, A., Michel, V., Amado, IF., Aranha, P., Ovesen, RG., Hansen, HC., Gärtner, FB., Reis, CA. and Touati, E. (2012). *Pteridium aquilinum* and its ptaquiloside toxin induce DNA damage response in gastric epithelial cells, a link with gastric carcinogenesis. *Toxicological sciences: an official journal of the Society of Toxicology.* 126(1): 60-71.
- Jubb, KVF., Kennedy, PC and Palmer, C. (2009). *Pathology of Domestic Animals. Volumen II.* Edited by M. Grant Maxie. Fifth edition. Chapter 4 Urinary System and hematopoietic system: 504:521. 568:570 pp.
- Marcal, WS. (2002). Aspectos clínicos Epidemiológicos de Toxides da Samambaia em bovinos. *Cien. Vet. Tróp.* 5(2):61-69.
- Marcal, WS. (2003). A intoxicacao por samambaia em bovinos criados no Estado de Paraná. *Semina: Ciencias Agrarias.* 24 (1):197-208.
- Marrero, Faz E., Bulnes, C., Sánchez, LM., Palenzuela, I., Stuart, R., Romero, J. y Jacobs F. (2001). *Pteridium aquilinum* (Bracken Fern). Toxicity in Cattle in the Humid Chaco of Tarija, Bolivia. In: *Clinical Reports. Veterinary and Human Toxicology.* 43:156-158.
- Marrero, Faz E., Bulnes, C., Sánchez, LM., Palenzuela, I., Stuart, R., Jacobs, F. and Romero, J. (2004). Chronic Toxicity in cattle due to *Pteridium aquilinum* (Bracken Fern) in Tarija Department, Bolivia. An Interdisciplinary Investigation. In: *Toxic plants and other Natural toxicants*, CABI Publishing UK, Chapter 37;248-252.
- Marrero, Faz E. (2008). *Plantas Tropicales Medicinales y Tóxicas: Efectos Farmacológicos Experimentales & Toxicosis en Animales.* Tesis en Opción al Título de Doctor en Ciencias, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, Universidad Agraria de la Habana, Ministerio de Educación Superior, Cuba.
- Marrero, Faz E., Alfonso, HA., Fuentes, FV., Tablada, PR., Sánchez, PLM., Palenzuela, PI. y Bulnes, GC. (2010). *Plantas Toxicas del Trópico.* 3ra Edición, Ed. San Luis, Cuba.
- Masuda, EK., Kommers, GD., Martins, TB., Barros, CS. And Piazer, JV. (2011). Morphological factors as indicators of malignancy of squamous cell carcinomas in cattle exposed naturally to bracken fern (*Pteridium aquilinum*). *J Comp Pathol.* 144(1): 48-54.
- Mateu, E y Casal, J. (2003). Tamaño de la muestra. *Rev. Epidem. Med. Prev.* 1:8-14.
- Mengi, AK., Nauriyal, DC., Sing, R. and Dhand, NK.. (2001). Hematological and Biochemical observation on the Blood of cattle suffering from Chronic Bovine Haematuria. *Indian Vet. J.* 78: 994-996.
- Oliveira, PA., Colac, A., Chaves, R., Guedes-Pinto, H., de la Cruz, PLF. And Lopes, C. (2007). Chemical carcinogenesis, *An. Acad. Bras. Ciênc.* 79 (2007) 593-616.
- Pamukcu, A M., Price, J M and Bryan, G T. (1976). Naturally Occurring and Bracken-Fern-Induced Bovine Urinary Bladder Tumors: Clinical and Morphological Characteristics. *Vet Pathol.* 13: 110-122.
- Panter, KE., Gardner, DR., Lee, ST., Pfister, JA., Ralphs, MH., Stegelmeier, BL and James, LF. (2007). Important poisonous plants of the Unites States. In: R.C. Gupta (Ed.) *Veterinary Toxicology: Basis and Clinical Principles*, Academic Press, New York.
- Peña, FL., Rodriguez, BA., Blanco, MJ., Perez, AD., Gonzales, FM., Sanchez, MM., Pizarro, DM., Maz-zucchelli, JF., Sanchez, MB., Castaño, RM. y Rodriguez, SM. (2001). Hallazgos Clínicos y anatomopatológicos de la Hematuria Enzoótica Bovina en una explotación Avileña-Negra Ibérica. VII Congreso Internacional de Medicina Bovina. Oviedo, 29 y 30 de junio y 01 de julio. España. 34-41.
- Rasmussen, L H., Schmidt, B and Sheffield, E. (2012). Ptaquiloside in bracken spores from Britain. *Chemosphere.* 10.092.

Rasmussen, L H., Schmidt, B and Sheffield, E. (2013). Ptaquiloside in bracken spores from Britain. *Chemosphere*. 90(10): 2539-2541.

Riet-Correa., Medeiros, R., Pfister, J., Schild, AL and Dantas, AF. (2009). Poisonings by plants, mycotoxins and related substances in Brazilian Livestock. Ed. Sociedades Vicente Pallotti, Pasto, Brazil.

Sánchez-Villalobos, A., Arraga, CM., García, BD., Pino, RD., Villarroel, NR y Boscán, OJC. (2004). Observaciones clínico patológicas en vacas con Hematuria Enzoótica Bovina *Rev Científica. FCV-LUZ* 14(4) 317-323.

Sánchez-Villalobos, A., Árraga, CM., Villarroel-Neri, R., Pino, RD., Garcia, BD., Sanchez-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. *Rev. Científica. FCV-LUZ*. Vol. 16(6):604-612.

Sánchez-Villalobos, A., Alvarado, C., Bracho, D., Ramírez, D., Neri, R y Ocando, J. (2010). Observaciones clínico patológicas en vacas con hematuria enzoótica bovina. *Revista Científica*. 14 (4).

Sharma, R., Bhat, TK. and Sharma, OP. (2013). The environmental and human effects of ptaquiloside-induced enzootic bovine hematuria: a tumorous disease of cattle. *Rev Environ Contam Toxicol*. 224: 53-95.

Singh, V. (2007). Etio-pathological studies on bovine papillomatosis and enzootic bovine haematuria with special reference to combined effects of BPV and fern in hamsters. M.V.Sc. Thesis submitted to Deemed University, IVRI, Izatnagar-243 122, UP, India.

Smith, BL. And Seawright, A A. (1995). Bracken fern (*Pteridium* spp.) carcinogenicity and human health—a brief review. *Nat Toxins*. 3(1): 1-5.

Smith, BL., Alonso-Amelot, ME., Marrero, E. (2004). Poisonous plants and related toxins. T. Acomodi, C. S. Steward and T.W. Pennycott. (Eds). CABI Publishing: 227-240; 241-247; 248-261pp.

Vetter, J. (2009). A biological hazard of our age: bracken fern [*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn]-a review. *Acta Vet Hung*. 57(1): 183-196.

Wosiacki, SR., Claus, MP.; Alfieri, AF. and Alfieri, AA. (2006). Bovine papillomavirus type 2 detection in the urinary bladder of cattle with chronic enzootic haematuria. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 101:635-638.