

FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS CON HEMATURIA ENZOÓTICA BOVINA EN EL MUNICIPIO CAMPO ELÍAS, ESTADO MÉRIDA, VENEZUELA

Risk Factors Associated with Bovine Enzootic Haematuria in Campo Elías County, Mérida State, Venezuela

Alfredo Sánchez V.¹, Dionel García B.¹, Cruz Ma. de Alvarado¹, Manuel Villegas², Regino Villarreal¹ y Ulises Jiménez G.¹

¹ Policlínica Veterinaria LUZ, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia, Apdo. 15.252. Maracaibo 4005-A, Venezuela.

² Asociación de Ganaderos de la Zona Alta de Mérida (AGZAM). Unión de Productores de Leche de Jají (UPLEJAJÍ). Mérida, Venezuela

RESUMEN

Fue realizado el estudio y determinación de los factores de riesgo asociados a la ocurrencia de la Hematuria Enzoótica Bovina (HEB), en el municipio Campo Elías, Edo. Mérida, Venezuela. El mismo comprendió el análisis detallado del problema al involucrar a los animales bovinos y su entorno, utilizando técnicas de recolección de información como: evaluación clínica de los animales, análisis clínico patológico de muestras de sangre, orina, aspirado de médula ósea, análisis anatómico patológico de los órganos afectados, así como también la ejecución de una encuesta epidemiológica a los propietarios de las fincas del sector. Se demuestra que la HEB es una fuerte limitante para la consolidación y desarrollo de la ganadería lechera. Los factores de riesgo encontrados asociados a la enfermedad fueron: edad mayor a los 24 meses ($P < 0,05$; $5,46 > 3,84$) y zonas geográficas ($P < 0,01$; $37,10 > 24,7$). No se evidenció relación de riesgo con la cantidad de helechos presentes en los potreros, ni con la presencia de papilomatosis cutánea a nivel de la glándula mamaria, tampoco se evidenció asociación de la enfermedad con el grado de tecnificación de las fincas, ni se encontró asociación entre el sexo de los animales, ni su tipo racial respecto a la presencia o aparición de la enfermedad. Adicionalmente, se discute, el papel que juegan el consumo de Helecho macho (*Pteridium aquilinum*), los papilomavirus y los citomegalovirus en relación a la etiología de la enfermedad.

Palabras clave: Hematuria enzoótica bovina, factores de riesgo, epidemiología.

ABSTRACT

A study was carried out to determine risk factors associated to Bovine Enzootic Haematuria (HEB) in Campo Elías county Mérida state, Venezuela. It included detail analysis of the problem involving all bovine and their environment. Different techniques to get information were used such as: animals' clinical evaluation, clinical pathology analysis of blood sample, urine, bone medulla, the pathological analysis of affected organs, as well as an epidemiological survey to the farmers. Results indicated that HEB is a strong limiting factor to achieve and develop milk livestock in the region. Risk factors founded associated to HEB were: age old than 24 months ($P < 0.05$; $5.46 > 3.84$) and geographical zones ($P < 0.01$; $37.10 > 24.7$). Relationship of risk with the quantity of bracken fern (*Pteridium aquilinum*) present in the pasture was not evident, neither was with the presence of cutaneous papillary disease on mammary gland, neither was association of the HEB with the grade of technology of the farms. There was not association related to animals' sex, or breed type concerning with the presence of the disease. Finally, there was argued, the role that the consumption of bracken fern (*Pteridium aquilinum*), the presence of virus papilloma and the cytomegalovirus play in relationship to the etiology of the disease.

Key words: Bovine enzootic haematuria, risk factors, epidemiology.

INTRODUCCIÓN

La Hematuria Enzoótica Bovina (HEB) es una enfermedad frecuentemente asociada con neoplasia de la vejiga urina-

ria [6, 8, 16, 18, 29, 30, 31]; se encuentra distribuida a lo largo y ancho del mundo [2, 5, 6, 16, 18, 29], siendo reportada en áreas templadas y asociada a tierras poco fértiles o poco cultivadas [5, 23, 25]. Su ocurrencia puede ser tan alta como 25% en animales mayores de dos (2) años de edad [26, 34]. En países como Bulgaria, la frecuencia puede alcanzar el 90% en el ganado adulto [26,34]; en tierras altas de Escocia se registra hasta un 20% en novillas [20, 34]; y un 9,37% se ha demostrado en algunas provincias de Irán [34].

En nuestro país, De Jongh [15] demostró una incidencia del 8,44% en toda la zona montañosa del Edo. Mérida, reconociendo que en algunas áreas hasta el 18% de los rebaños muestran HEB; sin embargo, datos más recientes [5] acusan en el municipio Campo Elías un 80% del ganado afectado, incluyendo lotes enteros de animales importados. Otros estados andinos se aprecian igualmente afectados, pero la ocurrencia disminuye en forma drástica en las fincas del pie de monte andino, los llanos y las planicies al sur del lago de Maracaibo [5, 15].

Por tales razones, la ocurrencia de HEB pudiera estar relacionada con la distribución geográfica del helecho [5, 18, 23, 25, 36, 43, 44] *Pteridium aquilinum* (aunque otras especies han sido involucradas [18, 36, 43, 44]), y responsabilizada probablemente por el consumo del mismo. Dicha relación ha sido reconocida desde hace muchos años [28, 40]. Así, la enfermedad fue descrita por primera vez en 1942 [17], al observar que el helecho macho siempre se encontraba presente en fincas donde ocurría, y en las cuales estaba ausente, la enfermedad no se presentaba. En un área montañosa de Turquía [26], nuevos casos de HEB cesaron cuando ésta fue fertilizada y drenada, por lo que la flora fue alterada eliminando la presencia del helecho. Cabe destacar que la HEB también ha sido observada, aunque raras veces, fuera de las zonas endémicas, o donde no se reporta la presencia del helecho, como en Kenia y áreas de los Estados Unidos [7, 22, 35], donde la frecuencia es inferior a 0,1 y 0,01% respectivamente.

Lo expresado en los párrafos anteriores, hace necesario recurrir a una descripción breve de algunas características de dicha planta. El helecho macho (*Pteridium aquilinum*), es una planta cosmopolita, perteneciente a la familia Polypodiaceae [5, 23, 25]. En Venezuela se describen dos (2) variedades importantes: la *caudatum* y la *arachnoideum*, que poseen claras diferencias morfológicas y crecen sobre altitudes diferentes [5, 23, 25].

Esta planta es capaz de desarrollarse entre los pastizales u otros competidores, pudiendo hacerlo rápidamente a pesar del bloqueo parcial de la luz solar; este crecimiento, la particulariza como un alimento perenne para el ganado, en forma especial durante la época seca, cuando los pastos son escasos [3, 5, 23, 25]. Sin embargo, la presencia de enemigos naturales del helecho, como insectos y roedores, que atacan las hojas jóvenes y tiernas, comprometen su capacidad de desarrollo ya que al romperse las puntas o desprenderlas, mueren.

De este modo, el helecho puede haber desarrollado mecanismos metabólicos para concentrar defensas químicas cualitativas en estos tejidos frágiles, en especial mutágenos [3, 13, 16, 38], carcinógenos [1, 2, 3, 4, 5, 13, 18, 23, 24, 25, 32, 37, 41], e inmunosupresores [3, 5, 10, 11, 19, 22, 35], entre otros [6, 9, 16, 18] que hacen de él una de las especies resistentes y exitosas del reino vegetal, considerándose una de las cinco malezas más importantes del mundo [3, 5, 13, 23, 25].

Hoy, aun cuando no se ha comprobado de manera fehaciente cual ó cuales son los metabolitos responsables de su acción, se reconoce la estrecha relación existente entre presencia del helecho y aparición de la HEB [2, 5, 6, 13, 16, 29, 37, 39, 41, 42, 43, 44]; una fracción de un glucósido inestable, denominada ptaquiloside, ha sido implicada directamente con la etiología de la HEB [1, 2, 3, 4, 13, 18, 39, 41, 44]. Este metabolito es considerado en la actualidad como el más importante de los múltiples carcinógenos del helecho [3, 5, 13, 38, 44], pero por ser un compuesto inestable su aislamiento es dificultoso; sin embargo, ya se reportó su cuantificación directa [1].

No obstante, se reconoce que las concentraciones de los compuestos varían con la edad, las partes e incluso existen diferencias entre variedades de la planta. Algunos estudios han revelado [2, 4, 5] que la mayor concentración fue encontrada a los 12 días de emerger la planta del suelo. En relación a las partes de la planta [2, 3, 4, 5] los valores más altos se encontraron en la parte media, aunque la concentración del ptaquiloside permaneció constante en todas las partes aéreas. Las concentraciones de esos metabolitos son también diferentes para el caso de la variedad *arachnoideum* del *Pteridium aquilinum*, donde las concentraciones del ptaquiloside son pequeñas, comparativamente, predominando otros compuestos tóxicos: cianuro y taninos, razón por la cual el riesgo para el ganado relacionado a HEB es diferente, siendo mayor en aquellas fincas cuyos potreros estén infestados del *Pteridium* de la variedad *caudatum* [4, 5].

Por otro lado, debe tomarse en cuenta que el ganado bovino acostumbrado a buscar alimento al caminar a lo largo de las cercas o dentro de los bosques, donde la humedad está mejor preservada, consigue aunque con dificultad los helechos pequeños y jóvenes, que resultan tiernos y atractivos como alimento, no así las hojas grandes, que son fácilmente percibidas, pero que son toscas y poco palatables [5, 23, 25]. Entonces, la combinación de la alta viabilidad y crecimiento del helecho, los hábitos de alimentación de los bovinos y la alta concentración de metabolitos en las plantas, especialmente las más jóvenes pertenecientes a la variedad *caudatum*, incrementan considerablemente el riesgo de envenenamiento de los animales, sobretodo durante la época seca [3, 5, 23, 25].

Sin embargo, la etiología de la HEB no está todavía clara, de tal manera que se han involucrado otros factores en la etiología, así una posible vinculación viral ha sido hecha [7, 10, 11, 19, 21, 22, 35]. Diversas evidencias asocian la presencia

de lesiones papilomatosas tanto a nivel de los pezones de las vacas afectadas, como del tracto digestivo superior (esófago), considerándose una posible relación causa-efecto entre este particular virus -papilomavirus bovino (PVB)- y la presencia de lesiones tumorales en la vejiga urinaria [7, 10, 11, 19, 21, 22, 35]. Otros virus también han sido asociados con la enfermedad [33].

En tal sentido, Campo y col. [11] reconocen que, lesiones típicas de HEB pueden ser reproducidas de manera experimental en animales bovinos sometidos a una dieta de helechos sugiriendo asimismo, que la inmunosupresión, provocada por el consumo, es un paso crítico necesario pero no suficiente para la carcinogénesis en el ganado, demostrando una relación estrecha entre PVB y neoplasia de la vejiga urinaria; evidenciando además, la existencia de infecciones latentes del papilomavirus tipo 2 (PVB-2), que en presencia de los carcinógenos e inmunosupresores del helecho, exacerbaban sus efectos y pudieran ser responsables de las lesiones encontradas [7, 10, 11, 19, 21, 22, 35].

Otros factores epidemiológicos tales como la edad, el sexo, el tipo racial o raza de los animales también han sido estudiados en relación a la HEB. Diversos estudios demuestran diferencias importantes en relación con la edad de los animales afectados, siendo reportada en animales de edades comprendidas entre 4 y 12 años [8, 18, 26, 34]. Seifi [34] reporta en Irán una alta frecuencia en el grupo de animales entre 8 a 9 años de edad, argumentando que rara vez es detectada en animales jóvenes menores de 2 años. Pamacku [26] revela que los animales mayores de 2 años tienen un riesgo de más de un 25% en comparación con los de menor edad. De Jongh [15] en la zona alta del estado Mérida, obtuvo un mayor porcentaje de ocurrencia en animales de 3 y más años.

En el mismo orden de ideas, ni el sexo ni la raza han mostrado diferencias en relación con la aparición de la enfermedad [6, 16, 18, 29]. En Irán, no se encontraron diferencias significativas en el riesgo de la HEB por sexo y raza, al comparar la frecuencia en el ganado nativo vs. el importado [34].

En razón de las situaciones planteadas, el objetivo principal de la presente investigación fue estudiar la ocurrencia de la HEB en el municipio Campo Elías del estado Mérida, determinando la relación existente entre su frecuencia y diversos factores de riesgo como: el sexo y la edad de los animales, las zonas geográficas, la presencia de papilomatosis cutánea (glándula mamaria), el grado de tecnificación de las fincas y la cantidad de helecho presente en los potreros.

MATERIALES Y MÉTODOS

Universo

El universo de la presente investigación estuvo integrado por las fincas de producción de leche del municipio Campo Elías, Edo. Mérida, agrupados en la Unión de Productores de

Leche de Jají (UPLEJAJÍ), que reúnen un total aproximado de 9750 cabezas de ganado bovino, donde se incluyen 1970 vacas lecheras.

Descripción de la zona en estudio: El área de estudio está constituida por las fincas ubicadas en los sectores conocidos como: La Playa de Jají, Boconó, Portachuelo, Piedras Blancas, Palo Negro, Miraflores, San Eusebio, Paramito, Las Cruces, La Chorrera, Macho Capaz y otros sectores del municipio Campo Elías, Edo. Mérida.

La zona se caracteriza por una precipitación media anual de 1816 mm; la temperatura promedio anual es de 17,8°C con variaciones de $\pm 2,5^\circ\text{C}$; la humedad relativa se encuentra en una media anual de 82%; la altitud variable, topográficamente comprende condiciones que van desde laderas suaves hasta montañas con pendientes pronunciadas, desde los 1000 msnm hasta los 2500 msnm, correspondiendo la región a un clima templado intertropical con una estación seca [14].

El tipo de explotación se caracteriza por la utilización de grandes inversiones (capital y tecnología) en superficies muy pequeñas de tierras. El tipo de pasto que predomina en la zona es el Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) ofrecido en pastoreo, siendo la base fundamental de la alimentación del ganado, complementándose al momento del ordeño con alimento concentrado de alta energía y proteína, en cantidad variable, dependiendo de la producción de leche. El suministro de sales minerales es irregular en el tiempo y, las cantidades suministradas pueden resultar insuficientes [14].

Población a muestrear: La presente investigación involucró animales bovinos de razas europeas puras y mestizos, fundamentalmente Holstein y en menor importancia Jersey, Pardo Suiza, Criolla, Cebú y Ayrshire, provenientes de la importación directa o descendientes de vacas del Canadá, Estados Unidos, Nueva Zelandia y Cuba, explotándose como razas puras o en mestizajes, representando así un importante reservorio genético, insustituible bajo las condiciones económicas actuales que atraviesa el país.

El cálculo de la muestra fue realizado en base a la siguiente fórmula [12]:

$$n = \frac{z(\alpha/2)^2}{4xe^2}$$

Donde, n es el tamaño de la muestra, z = nivel de confianza 95%, e = error del muestreo 2,5%. Por lo tanto se obtuvo: $n = 30$

Diseño del muestreo

El diseño del muestreo fue realizado mediante un estudio aleatorio estratificado, según el procedimiento establecido para estudios por sector [12]. La distribución de las muestras se señalan en la TABLA I.

TABLA I
MUESTREO ALEATORIO ESTRATIFICADO POR SECTOR PARA EL ESTUDIO DE LA HEB EN EL MUNICIPIO CAMPO ELÍAS, MÉRIDA, VENEZUELA

Sector	Total Vacas	%	Muestra	
			Animales	Fincas
1	365	18,56	5,57 = 6	6
2	68	3,46	1,04 = 1	1
3	88	4,44	1,33 = 1	1
4	290	14,74	4,42 = 5	4
5	222	11,28	3,38 = 3	3
6	59	3,02	0,90 = 1	1
7	264	13,41	4,02 = 4	4
8	176	8,97	2,69 = 3	3
9	68	3,46	1,04 = 1	1
10	88	4,44	1,33 = 1	1
11	93	4,71	1,41 = 1	1
12	189	9,59	2,88 = 3	3
Totales	1970	100,00	30	29

TABLA II
CRITERIOS DE CLASIFICACIÓN DE LAS FINCAS SEGÚN EL USO DE ELEMENTOS TECNOLÓGICOS

Ítems	3 Puntos	2 Puntos	1 Punto
Instrucción	Universitario	Secundaria	Primaria
Razas	Alto Mestizaje	Mediano mestizaje	Mediano mestizaje
Prom de Prod.	Mayor a 15	Entre 12 a 15	Entre 8 a 12
Concentrado	Entre 2,0 a 2,5	3,0	Menor a 2
Sanitario	Más de 4 vacunac.	3 vacunac. mínimo	-
Reproducción	Inseminación A.	-	Monta Natural Cont.
Helecho	No hay	Escaso	Moderado
C. del Helecho	Químico	Mecánico	-

Obtención y procesamiento de la muestra

Los treinta animales fueron sometidos a una evaluación clínica de rutina, a objeto de realizar un diagnóstico presuntivo de HEB y/o de descartar la existencia de otras enfermedades. Ella incluyó evaluación de los signos vitales y valoración de cada uno de los órganos y sistemas. Luego, se realizó la recolección de muestras de orina, sangre y aspirado de médula ósea, a objeto de realizar el análisis clínico patológico que permitiera el diagnóstico definitivo. Las muestras fueron analizadas en los laboratorios de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Los Andes y en la Unidad de Investigaciones Clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia.

Encuesta

Se elaboró un instrumento (encuesta) para la recolección de los datos correspondientes a los factores asociados con la enfermedad bajo estudio, la cual fue llenada en entre-

vista personal, con los propietarios o administradores de veintinueve (29) fincas ganaderas, permitiendo conocer el nivel de descarte de los últimos doce (12) meses como consecuencia de la enfermedad, así como relacionar la HEB con el grado de invasión de los potreros por la maleza (Helecho macho) y su variación respecto al nivel de tecnificación aplicado en cada finca. Dichas entrevistas permitieron correlacionar el grado de tecnificación utilizado con la presencia de HEB. El nivel de tecnificación se determinó partiendo de los criterios siguientes: concepción propia de los investigadores, grado de instrucción de los propietarios, raza o mestizaje predominante de los animales, promedios de producción de leche diario por animal, eficiencia en la utilización del alimento concentrado, alcances del programa sanitario implementado, métodos de reproducción, presencia del helecho macho y métodos de control del mismo, dando a cada uno de ellos un puntaje entre 0 y 3 puntos, TABLA II, para clasificar las fincas en cuatro categorías. TABLA III.

TABLA III
RESULTADOS DE LA RELACIÓN ENTRE EL USO DE ELEMENTOS TECNOLÓGICOS Y EL DESCARTE DE CASOS CLÍNICOS DE HEMATURIA ENZOÓTICA BOVINA (HEB)

Grado de Tecnología	Puntos	Nº Fincas	%	Vacas Descartas por HEB	%
Excelente	20 - 24	6	20,69	16	24,24
Bueno	16 - 19	13	44,83	38	57,57
Mediana	11 - 15	7	24,14	7	10,61
Pobre	menor a 11	3	10,34	5	7,58
Totales		29		66	

TABLA IV
CORRELACIÓN ESTADÍSTICA ENTRE LA EDAD DE LOS ANIMALES Y LA APARICIÓN CLÍNICA DE HEB (CASOS CLÍNICOS ESTUDIADOS)

Edad (Meses)	Casos	Total Cabezas	% Prev.	Esperado	Obs-Esp	(O - E) ²	X ²
Menor a 24	0	473	0,00	5,46	-5,46	29,81	5,46
24 - 48	6	371	1,62	4,34	1,66	2,76	0,63
49 - 72	11	389	2,83	4,62	6,38	40,70	8,81
73 - 96	1	435	0,23	5,03	-4,03	16,24	3,23
Mayor a 95	5	302	1,66	3,54	1,46	2,13	0,60

Edad (Meses)	Casos	Total Cabezas	% Prev.	Esperado	Obs-Esp	(O - E) ²	X ²
Menor a 24	0	473	0,00	5,46	-5,46	29,81	5,46
Mayor a 24	23	1497	1,54	17,54	5,46	29,81	1,70

Altamente significativa (P = 0,01).

Variables y análisis estadístico

- **Edad:** Grupos etarios diferentes, se tomaron edades desde los primeros días después del nacimiento sin considerar un límite superior, lográndose la valoración de animales hasta los 10 años de edad.
- **Sexo:** Machos y hembras existentes en las fincas.
- **Tipo racial:** Dado la alta participación de la raza Holstein y la poca variabilidad en la mayoría de los animales, se discriminaron los resultados en grupos raciales denominados: Puro o Alto Mestizaje Holstein, Mediano mestizaje y bajo mestizaje.
- **Grado de Tecnología:** Partiendo de la clasificación propia de los autores, se discriminan los resultados en cuatro categorías: Excelente tecnificación, Buena, Mediana y Pobre.
- **Cantidad de helecho:** Determinada por los propios propietarios de las fincas, clasificando cuatro grupos: Abundante, Moderado, Escaso y Ninguno,
- **Papilomatosis cutánea:** Presencia o no de papilomas a nivel de los pezones y base de la glándula mamaria, evidenciada a través de la evaluación clínica.
- **Zonas geográficas:** Se clasificaron 12 grupos de acuerdo a la ubicación geográfica de cada finca.

Todos los resultados fueron sometidos a análisis estadísticos para verificar las asociaciones que pudieran existir entre las variables estudiadas y la enfermedad mediante el test de Ji-Cuadrado (X²).

RESULTADOS

En la TABLA IV se muestra la ocurrencia de la HEB en relación a los grupos de edades. La más alta tasa de positividad encontrada fue para el grupo de 49 a 72 meses de edad; en el mismo grupo se evidenciaron 11 animales afectados, contra una expectativa teórica esperada de 4,62 animales.

Diferente frecuencia fue observada para cada una de las zonas en estudio, TABLA V. Las zonas La Chorrera y Miraflores presentaron mayor riesgo; la ocurrencia fue de 30,61 y 11,76%, mientras la expectativa de casos fue de 3,54 y 2,10, en forma respectiva.

En cuanto a la cantidad de helecho presente en los potreros, los resultados se expresan en la TABLA VI, la más alta frecuencia (7,35%) se evidencia en las fincas con escasa presencia de la maleza. Cabe destacar además, que tres (3) de las vacas descartadas por HEB provenían de fincas que señalaron la inexistencia del helecho, en este grupo en particular se esperaban 12,02 casos, de acuerdo al análisis estadístico.

TABLA V
CORRELACIÓN ESTADÍSTICA DE LAS ZONAS GEOGRÁFICAS Y SU RELACIÓN CON EL DESCARTE DE ANIMALES POR HEB

Zonas Geográficas	Casos Clínicos	Total Cabezas	% Prev	Esperado	Obs - Esp	(O - E) ²	X ²
La Playa	19	209	9,04	12,62	6,38	40,70	3,23
Boconó	2	39	5,13	2,27	-0,27	0,07	0,03
Portachuelo	1	50	2,00	2,82	-1,82	3,31	1,17
P. Blancas	2	166	0,12	9,30	-7,30	53,29	5,73
Palo Negro	0	127	0,00	7,03	-7,03	49,42	7,03
Miraflores	4	34	11,76	2,10	1,90	3,61	1,72
San Eusebio	13	151	0,09	9,08	3,92	15,37	1,69
Paramito	0	101	0,00	5,59	-5,59	31,85	5,59
Las Cruces	0	39	0,00	2,16	-2,16	4,67	2,16
La Chorrera	15	49	30,61	3,54	11,46	131,33	37,10
Macho Capaz	3	53	5,66	3,10	-0,10	0,01	0,00
Otras	7	108	6,48	6,37	0,63	0,40	0,06

Altamente significativa (P = 0,01).

TABLA VI
CORRELACIÓN ESTADÍSTICA ENTRE LA CANTIDAD DE HELECHO EN LOS POTREROS Y EL DESCARTE POR HEB

Cantidad de Helecho	Casos Clínicos	Total Cabezas	% Prev	Esperado	Obs- Esp	(O - E) ²	X ²
Ninguna	3	214	1,40	12,02	-9,02	81,36	6,77
Escaso	52	707	7,35	42,03	9,97	99,40	2,36
Moderado	3	69	4,35	3,99	-0,99	0,98	0,25
Abundante	8	136	5,88	7,97	0,03	0,00	0,00

TABLA VII
CORRELACIÓN ESTADÍSTICA ENTRE LA PAPILOMATOSIS CUTÁNEA Y LA APARICIÓN DE CASOS CLÍNICOS DE HEB (ANIM. EVALUADOS)

Papilomatosis Cutánea	Casos Clínicos	Sanas	Esperado	Obs - Esp	(O - E) ²	X ²
Sí	9	3	9,2	-0,2	0,04	0,00
No	14	4	13,8	0,2	0,04	0,00

En la TABLA VII se recogen los datos que relacionan la presencia de papilomatosis cutánea y la HEB. Cabe destacar una alta ocurrencia de la primera (40%) en el grupo de animales estudiados.

El grado de tecnología alcanzado por las fincas y su relación con la HEB se detalla en la TABLA VIII; la ocurrencia de la enfermedad fue similar para cada uno de los grupos.

No se encontraron diferencias aparentes entre los factores de riesgo sexo, ni tipos raciales, como se demuestra en las TABLAS IX y X.

DISCUSIÓN

Los más importantes factores de riesgo asociados a HEB detectados en el presente estudio están representados por la edad de los animales y las zonas geográficas tal como lo demuestran los análisis estadísticos.

Edad de los animales

Al estudiar la relación entre la edad de los animales y la presencia de HEB, resalta el hecho de no registrarse casos clí-

TABLA VIII
CORRELACIÓN ESTADÍSTICA ENTRE EL GRADO DE TECNIFICACIÓN DE LAS FINCAS Y LA APARICIÓN DE CASOS CLÍNICOS Y SUBCLÍNICOS DE HEB

Grado de Tecnología	Casos Heb.	Total Cabezas	% Prev	Esperado	Obs - Esp	(O - E) ²	X ²
Pobre	5	111	4,50	6,42	-1,42	2,02	0,31
Mediana	7	182	3,85	10,46	-3,46	11,97	1,14
Buena	38	616	6,17	36,21	1,79	3,20	0,09
Excelente	16	217	7,37	12,90	3,10	9,61	0,74

TABLA IX
CORRELACIÓN ESTADÍSTICA ENTRE EL SEXO DE LOS ANIMALES Y LA APARICIÓN DE HEB

Sexo	Casos Clínicos	Sin Heb	% Prev	Esperado	Obs - Esp	(O - E) ²	X ²
Hembras	22	1126	1,95	22,15	-0,15	0,02	0,00
Machos	1	43	2,33	0,85	0,15	0,02	0,03

TABLA X
CORRELACIÓN ESTADÍSTICA ENTRE LOS TIPOS RACIALES Y LA APARICIÓN DE LA HEB

Tipos Raciales	Casos Clínicos	Sanas	% Prev	Esperado	Obs - Esp	(O - E) ²	X ²
H1	20	835	2,40	17,11	2,89	8,35	0,49
H2	2	252	0,79	5,08	3,08	9,49	1,87
H3	1	39	2,56	0,80	0,20	0,04	0,05

nicos en animales menores a los 24 meses de edad, estos hallazgos coinciden completamente con los reportados por varios autores [5, 16, 18, 27, 29]. Asimismo, al comparar los resultados estadísticos de cada uno de los grupos de edades, no se obtuvo una asociación significativa entre ellos y la aparición de la enfermedad clínica, sin embargo al agruparlos en dos categorías, menores y mayores de 24 meses, se obtiene una relación negativa significativa alta ($P < 0,05$; $5,46 > 3,84$) para los animales menores de 24 meses y la aparición de los signos clínicos típicos de la HEB. Estas mismas evidencias también han sido reportadas [26, 27, 34]. Tales resultados posiblemente responden a la prolongada exposición a los factores etiológicos involucrados, en especial al consumo del hehecho, cuyo período mínimo de permanencia de los animales en las áreas endémicas, para la presentación de los signos clínicos está cerca a los 2 años [5, 11, 15, 16, 18, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 34].

Cabe destacar además, como se muestra en la TABLA IV, la relativa disminución de la frecuencia de la enfermedad en animales mayores de 73 meses de edad (mayores a 6 años), que se cree obedece al alto grado de eliminación o selección que se realiza en la zona, basado en la aparición de la enfermedad misma.

Zonas geográficas de estudio

La presente investigación abarcó toda el área ganadera del municipio Campo Elías, que incluye diferentes zonas geográficas entre sí, con similares características agroecológicas,

TABLA V, aunque la altitud varía. Al analizarse en forma separada cada sub-área, encontramos que los casos de HEB se concentraron en cuatro de ellas, obteniendo diferencias estadísticas altamente significativas, con relación a una de ellas ($P < 0,01$; $37,10 > 24,73$). Esta consideración permite sugerir la presencia de un factor común, quizás mayor presencia de la variedad *caudatum* del hehecho macho, lo que no fue determinado.

Estos resultados coinciden con los de diferentes autores [5, 10, 15, 26, 27, 34], que señalan la ocurrencia de la enfermedad en áreas definidas por la distribución geográfica del hehecho, *Pteridium aquilinum*. Igualmente, se han descrito diferencias estadísticas significativas sobre la presencia de HEB entre distintas áreas, de manera fundamental entre zonas montañosas y planas, pero también entre áreas montañosas entre sí [34].

Cantidad de hehecho presente

Los hallazgos del presente estudio sugieren que no existe una estrecha relación entre la cantidad de hehecho presente en los potreros y la aparición de la HEB. Así, al considerar la detección de tres (3) animales descartados, provenientes de fincas que reportaron la inexistencia de la maleza, TABLA VI, no se obtuvo correlación estadística significativa ($6,77 < 7,815$, $GdeL=3$) entre este ítem y la enfermedad.

Los datos así obtenidos coinciden sólo en parte con los descritos para esta zona geográfica [16], donde se sugiere una

relación directa y proporcional entre la presencia del hehecho y la aparición de casos de HEB, la cual no fue encontrada. Dichas diferencias, pueden estar motivadas a varios elementos: primero, en ninguno de los dos estudios existe una verdadera cuantificación de la cantidad de hehecho que pueda estar presente, sino más bien apreciaciones subjetivas de escaso valor científico; segundo, el grado de invasión no puede entenderse como un aspecto estático, sino cambiante, de acuerdo a las condiciones climáticas que en un momento dado pudiera hacer de la maleza un forraje apetecible, en comparación al pasto (p.e, tiempo de sequía). Los hábitos de pastoreo y la mayor concentración de metabolitos en las plantas jóvenes, así como la variedad de hehecho presente, son también razones de peso [4, 5, 11, 18, 32]. No es lógico por tal razonamiento, una relación directa entre la cantidad de hehecho y la presencia de la enfermedad en forma clínica, como se demuestra en este reporte. Por ello, se puede afirmar que la presencia del hehecho es un factor determinante para la aparición de la enfermedad, sin embargo la abundancia de la maleza, en determinado momento, no parece ser un factor importante.

Presencia de Papilomatosis cutánea

Un alto porcentaje (40%) de las vacas examinadas presentó lesiones a nivel de los pezones compatibles con PVB, pero al estudiar su relación con la aparición de HEB no se determinaron diferencias significativas que sugirieran una posible asociación clínica. Esto difiere con diversas investigaciones que asocian el virus del papiloma bovino y el consumo de hehecho macho, en la aparición de los casos de tumores de la vejiga urinaria [7, 10, 11, 12, 21, 27]. Sin embargo, la posibilidad de latencia descrita para el PVB-2 y su posible activación en presencia de inmunodepresores del hehecho [11, 17], deja un área razonable para investigar al respecto. Pero, permite esclarecer que la existencia de papilomatosis cutánea clínica no es un factor de riesgo determinante, en ningún caso, para la aparición de HEB. Algunos autores [20, 27], asocian de manera significativa la presencia de papilomatosis del tracto digestivo superior y la HEB; sin embargo, las lesiones referidas no fueron detectadas en ninguno de los casos estudiados, ni tampoco han sido descritas en relación con la enfermedad en la zona de estudio.

Grado de tecnificación

Los resultados obtenidos demuestran que los casos clínicos estudiados de la enfermedad, provienen indistintamente de fincas con diversos grados de tecnificación, TABLA IX, estos son diferentes a los presentados por De Jongh [15], quien indica mayor incidencia de casos de HEB en las fincas con mediana y sin ningún grado de tecnificación, sugiriendo así la existencia de una relación inversa y proporcional entre el grado de tecnología y la presencia de la HEB. Las diferencias entre los hallazgos descritos para la misma zona, transcurridas dos décadas, pudiesen ser indicativo de la existencia de algún elemento adicional, como la participación de agentes virales,

tales como los citomegalovirus, que recientemente han sido asociados a la aparición de la enfermedad en esta misma área geográfica [33], los cuales en acción sinérgica a los factores conocidos (consumo del hehecho), fuesen responsables del repunte de los casos observados.

Sexo

Al estudiar la relación sexo de los animales y aparición de la HEB no se determinó correlación estadística, pese a evidenciarse una mayor frecuencia de aparición en las hembras, lo cual se explica por la relación numérica; estos resultados coinciden con los reportes consultados [6, 16, 18, 27, 29].

Tipos raciales

No se evidenció ningún tipo de asociación estadística entre los principales mestizajes explotados en el municipio Campo Elías con relación a la presencia de la HEB; dichos resultados coinciden con los hallazgos de otros autores [27, 34].

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La HEB es una fuerte limitante para la consolidación y desarrollo de la ganadería lechera en el municipio Campo Elías del Edo. Mérida, como lo demuestra su alta frecuencia en relación a los factores estudiados.

Los factores de riesgos detectados asociados a la enfermedad son: edad mayor a los 24 meses ($P < 0,05$; $5,46 > 3,84$) y zonas geográficas ($P < 0,01$; $37,10 > 24,73$).

No se evidenció relación de riesgo con la cantidad de hehechos presentes en los potreros. Sin embargo, estos hallazgos no descalifican la relación hehechos: HEB, al definirse que la cantidad del hehecho es un concepto dinámico que depende de los factores agroclimáticos existentes, la variedad presente y la edad de la planta, elementos que determinan la concentración de los metabolitos presentes. Por el contrario se reafirma la asociación entre estos agentes etiológicos potenciales, al demostrarse estrecha vinculación geográfica entre ellos.

No se determinó correlación estadística significativa entre la alta prevalencia de papilomatosis cutánea y la HEB, lo cual de ninguna forma pretende desconocer al VPB como posible factor relacionado con la etiología, al quedar abierta la posibilidad de una acción sinérgica entre el VPB-2 en estado de latencia, quien se exacerba por acción de los inmunodepresores del hehecho y los carcinógenos del mismo.

No se mostró significancia entre la aparición de la enfermedad con relación al sexo, como tampoco a los tipos raciales explotados.

Son necesarios nuevos estudios que precisen el papel que juegan los agentes etiológicos en relación con la enfermedad.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su especial agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES), por el financiamiento del proyecto que diera pie a los resultados reportados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AGNEW, M.P.; LAUREN, D.R. Determination of Ptaquiloside in Bracken Fern (*Pteridium esculentum*). **Journal Chromatography**. 538: 462-468. 1991.
- [2] ALONSO, M.E.; PÉREZ, M.; CALCAGNO, M.P.; JAIMES, E.R. Quantification of Pterosins A and B, The Main Carcinogen of *Pteridium aquilinum* (L. Kuhn), by High Pressure Liquid Chromatography. **Phytochemical Analysis**. 3: 160-164. 1992a.
- [3] ALONSO, M.E.; PÉREZ, M.; CALCAGNO, M.P.; JAIMES, E.R.; CASTILLO, U. Ontogenic Variation of Biologically active Metabolites of *Pte. aquilinum* (L. Kuhn), Pterosins A and B, and Ptaquiloside in a Bracken Population of the tropical Andes. **Journal of Chemical Ecology**. 18(8): 1405-1420. 1992b.
- [4] ALONSO, M.E.; RODULFO, S.; JAIMES, E.R. Comparative Dynamics of Ptaquiloside and Pterosin B in the Two Varieties (*caudatum* and *aracchnoideum*) of Neotropical Bracken Fern (*Pteridium aquilinum* L. Kuhn). **Biochemical Systematics and Ecology**. 23 (7-8): 709-716. 1995.
- [5] ALONSO, M.E. Helecho macho, salud animal y humana. **XV Reunión Latinoamericana de Producción Animal (ALPA). IX Congreso Venezolano de Zootecnia**. Maracaibo, Noviembre 25 al 28. Memorias: 2- 13. 1997.
- [6] BLOOD, D.C.; RADOSTITS, O.M. **Medicina Veterinaria**. Editorial Interamericana-Mc Graw. 7ª edición. II (35):1545 -1546. 1992.
- [7] BLOCH, N.; SUTTON, R.H.; BREEN, M.; SPRADBROW, P.B. Bovine Papillomavirus type 4 in Australia. **Australian Veterinary Journal**. 72. 7: 273-274. 1995.
- [8] BROBST, D.F.; OLSON, C. Neoplastic and proliferative lesions of bovine urinary bladder. **Cancer Research**. 25: 12. 1965.
- [9] CAIRNEY, M.; CAMPO, S.M. The synergism between bovine papillomavirus type 4 and quercetin is dependent on the timing of exposure. **Carcinogenesis**. I, (16): 1997-2001. 1995.
- [10] CAMPO, M.S.; JARRETT, W.F.; KAMBO, P.K.; BARON, R.; O'NEIL, B.W.; SMITH, K.T. Association of bovine papillomavirus type 2 and bracken fern with bladder cancer in cattle. **Cancer Research**. 52 (24): 6898-6904. 1992.
- [11] CAMPO, M.S.; JARRETT, W.F.H.; O'NEIL, B.W.; BARON, R.J. Latent papillomavirus infection in cattle". **Research in Veterinary Science**. 56 (2): 151-157. 1994.
- [12] CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. Bioestadística: Procedimientos para estudios de prevalencia por muestreo. **Organización Panamericana de la salud**. Argentina. Nota Técnica N° 18:35. 1979.
- [13] COOPER, G.A. Defense Strategies in Bracken Fern, *Pteridium aquilinum* L. Kuhn. **Modern Botany Garden**. 77: 281-286. 1990.
- [14] DÁVILA, O.E. Evolución de la producción de leche en la zona alta de Mérida. **IV Jornadas Agropecuarias Indulac**. Santa Bárbara del Zulia, Mayo 29 y 30. Memorias: 2 -22. 1991.
- [15] DE JONGH, F. Ocurrencia y Diagnóstico Histopatológico de Hematuria Vesical clínica en bovinos de la zona alta del estado Mérida. **Boletín Progal** N° 10:1-22. 1978.
- [16] FRASER, C.M. Envenenamiento por Helecho Arborescente. **El Manual Merck de Veterinaria**. Editorial Océano. 4ta. edición. Barcelona. VIII:1887-1889. 1994.
- [17] GOETZE, R. Bracken fern associated with bovine haematuria. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**. 50: 57-61. 1942.
- [18] HOPKINS, N.C.G. Aetiology of Enzootic Haematuria. **Veterinary Record**. 118: 715-717. 1986.
- [19] JACKSON, M.; CAMPO, S.M.; GRAUKONER, J.M. Cooperation Between Papillomavirus and Chemical Cofactors in Oncogenesis. **Critical Reviews in Oncogenesis**. 4: 277- 291. 1993.
- [20] JARRET, W.F.H.; MCNEIL, P.E.; GRIMSHAW, W.T.R.; SELMAN, I.E.; MCINTYRE, W.I.M. High Incidence area of Cattle Cancer with a possible interaction between an environmental carcinogen and a papilloma virus. **Nature**. 274: 215 - 217. 1978.
- [21] KAMINJOLO, J.S.; MUGERA, J.M.; ROSTEL, A.F. Latent virus infection and enzootic haematuria in cattle. **Zentralblatt fur Veterinarmedizin**. (Abstract) . B19: 629-633. 1972.
- [22] OLSON, C.; PAMAKCU, A.M.; BROBST, D.F. Papiloma-like virus from bovine urinary bladder tumors. **Cancer Research**. 25:840-849. 1965.
- [23] ORTEGA, F. El Género *Pteridium* en Venezuela: Taxonomía y Distribución geográfica. **Biollania**. 7: 47-56. 1990.
- [24] PACHAURI, S.P.; SHARMA, V.K.; JOSCHI, H.C. Assay of fractions of bracken fern for carcinogenic activity. **Indian Journal of Animal Science**. I: 898- 901. 1981.
- [25] PACHECO, J.J.; PÉREZ, L. **Malezas de Venezuela**. Editorial Central. San Cristobal. :262-264. 1989.

- [26] PAMAKCU, A.M.; PRICE, J.M.; BRYAN, G.T. Naturally occurring and bracken fern induced bovine urinary bladder tumors. **Veterinary Pathology**. 13: 110-122. 1976.
- [27] PRADA, G.; RODRIGUEZ, O.A.; OLIVER, O.; DONADO, P. Caracterización Epidemiológica de la Hematuria Enzoótica Bovina en el corregimiento de Cincelada municipio de Coromoro, Santander. **Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia**. 43 (1) : 51-56. 1995.
- [28] PENBERTHY, J. Vegetable poisoning simulating anthrax in cattle. **Journal Comparative Pathology**. 6: 266-275. 1893.
- [29] PERSSON, L.; JOHANSSON, L.E.; KRISTIANSOON, L. Bracken - the probable cause of poisoning of cattle at pasture. **Svensk Veterinartidning**. 45 (4): 177-180. 1993.
- [30] QUEZADA, M.; POQUET, N.; HEBEL, P.; LETELIER, N. Haematuria associated with a urinary bladder in cattle. **Agro Ciencia**. 8 (1): 49-52. 1992.
- [31] RAO, D.S.T.; JOSHI, H.C.; KUMAR, M.; SING, G.K. Pathological studies on Bracken Fern (*Pteris aquilina*) induced haematuria in calves and rats. **Indian Journal of Animal Sciences**. 60 (6): 654-656. 1990.
- [32] SAITO, K.; NAGAO, T.; MATOBA, K.; NATORI, S.; MURAKAMI, T.; SAIKI, Y. Chemical assay of Ptaquiloside, the carcinogen of *Pteridium aquilinum*, and the Distribution of related compounds in the pteridaceae. **Phytochemistry**. 28: 1605-1611. 1989.
- [33] SÁNCHEZ, A.J. Hallazgos Epidemiológicos, Clínicos, Clínico patológicos y Anatómo Patológicos asociados a Hematuria Enzoótica Bovina en el municipio Campo Elías, Mérida. Universidad del Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias. (Trabajo de ascenso) :1-89. 1998.
- [34] SEIFI, H.; NOWROUZIAN, I.; ZAKARIAN, B. Risk factors associated with bovine urinary bladder tumors in Iran. **Preventive Veterinary Medicine**. 22: 55-60. 1995.
- [35] SIEGSMUND, B.M.; WAYS, A.; AMTMANN, E. Activation of Latent Papillomavirus Genomes by Chronic Mechanical Irritation. **Journal General Virology**. 72: 2787-2789. 1991.
- [36] SMITH, B.L.; EMBLING, A.P.; LAUREN, D.R.; AGNEW, M.P.; ROSS, A.D.; GREENTREE, P.L. Carcinogen in Rock fern (*Cheilanthes sieberi*) from New Zealand and Australia. **Australian Veterinary Journal**. 66 (5): 154-155. 1989.
- [37] SMITH, B.L.; LAUREN, D.R.; EMBLING, A.P.; AGNEW, M.P. Ptaquiloside in Australia and New Zealand ferns as a cause of neoplasia. In **Proceedings of the international conference Bracken 89 held in Sydney, Australia**, 18-21 July. Institute of Agriculture and Science of Australian (AIAS). Occasional Publication. 40: 241- 246. 1990.
- [38] SMITH, B.L. Bracken Fern and health in Australia and New Zealand. In **Proceedings of the international conference Bracken 89 held in Sydney, Australia**, 18-21 July. Institute of Agriculture and Science of Australian (AIAS). Occasional Publication. 40: 227- 232. 1990.
- [39] SMITH, B.L.; SEAWRIGHT, A.A.; NG, J.C.; HERTLE, A.T.; THOMSON, J.A.; BOSTOCK, P.D. Concentration of Ptaquiloside, a major carcinogen in Bracken Fern (*Pteridium spp.*) from Eastern Australia and from a Cultivated Worldwide Collection Held in Sidney, Australia. **Natural Toxins**. 2 (6): 347-353. 1994.
- [40] STORRAR, D.N. Cases of vegetable poisoning in cattle. **Journal Comparative Pathology**. 6: 276-279. 1893.
- [41] VILLALOBOS, J.; HASBUN, C; MENESES, A; ROJAS, J.L; MORA, J; PORRAS, R.E, HERRERO, V.M. Carcinogenicity of *Pteridium aquilinum* var. caudatum in Mice. **Abstract of the 9th World Congress on Animal, plant and Microbial toxins**. Oklahoma, April 12. 92 :19-25. 1988.
- [42] VILLALOBOS, J.; MENESES, A.; ROJAS, J.L.; MORA, J.; PORRAS, R.E.; HERRERO, V.M. Bracken Derived Carcinogens as Affecting Animal and Human Health in Costa Rica. Bracken Toxicity and Carcinogenicity as Related to Animal and Human Health. **Special Publication of Internacional Bracken Group**. University College of North Wales. :112- 119. 1989.
- [43] XU, L.R. Bracken poisoning and enzootic haematuria in cattle in China. **Res. Vet. Sci. London: British Veterinary Association**. 53 (1) : 116-121. 1992.
- [44] XU, L.R; WANG, Y.D.; WEN, L.J.; HE, K.R.; MA, W.L.; YOU, S.Z.; YANG, K.X. Poisoning and enzootic haematuria in cattle. **Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica**. 15: 211-215. 1984.