

Leucoencefalomalácia em equídeos da região Leste de Mato Grosso

Leukoencephalomalacia in Equidae of the Eastern Region of Mato Grosso, Brazil

Carlos Eduardo Pereira dos Santos¹, Francisco Simião Medeiros de Souto²,
Janio Moraes Santurio³ & Luiz Carlos Marques⁴

ABSTRACT

Background: Fumonisin produced by *Fusarium verticillioides* are among the most important medical mycotoxins known. The intake of concentrate based on corn and corn by-products contaminated with fumonisins can cause severe poisoning in horses. The injuries are observed mainly in the white matter of the brain, and the disease is known as Equine Leukoencephalomalacia (ELEM). This study aims to describe and discuss the epidemiological, clinical and diagnostic aspects of an outbreak of ELEM occurred in three farms in the municipalities of Canarana and Água Boa, in the eastern region of Mato Grosso, Brazil.

Materials, Methods & Results: The outbreak occurred between May and August 2010. The disease affected six horses and four mules of different ages and sex. Clinical examination was only possible in animals with chronic evolution of the disease. All the affected animals showed neurological clinical signs such as ataxia and recumbency, which progressed to death or sudden death. Histopathological analysis showed foci of necrosis that predominantly affected the white matter, and the presence of *gitter* cells. Degenerative lesions were observed in the liver of the animals. Mortality rate ranged from 12.5 to 71%, and lethality reached 100%. The cases were preceded by sudden drops in the weather temperature. Fumonisin levels of 6.6 ppm were detected in the feed of the animals.

Discussion: The presumptive diagnosis of leukoencephalomalacia was consistent and based on clinical and epidemiological studies. However, the definitive diagnosis was based upon the histological features of the brain including the presence of extensive areas of malacia. Moreover, the animals were being fed with corn or corn by-products contaminated with fumonisins levels considered to be toxic to equids. The mortality and lethality rates are in agreement with outbreaks described in previous studies. The animals showed neurological signs as the predominant clinical manifestation, with gait ataxia followed by recumbency, prostration and death between 24 h and 29 days. Similarly to other reports, the disease was more frequent in adult animals, which succumbed in 24–48 h. Conversely, the evolution of the disease in young animals was of 10 to 29 days. Sudden death was more prevalent in the mules. Previous studies have shown a predominance of cerebral and brainstem lesions in horses, whereas in mules the clinical signs are related to brainstem lesions. Corn and corn by-products are commonly used as energy supplementation to horses in the southern of Mato Grosso state, but outbreaks of the disease are uncommon. This may be influenced by the prevalence of hot climate conditions, which does not favor the production of toxin by the fungus. The atypical low weather temperatures (9–11°C) observed prior to the outbreak could have contributed to the mycotoxin production by *F. verticillioides*, which requires temperatures between 8–12°C to produce toxins. However, the disease in the region may be underestimated, considering that the practice of necropsies is not common among field technicians, mainly in the occurrence of sporadic deaths among horses intended for work. Preventive measures include avoiding the use of corn and corn by-products for horses after periods of sudden drops in temperature in the region. Furthermore, clinical and epidemiological surveys and *post-mortem* and histopathological analyses are undoubtedly important for appropriate differential diagnosis, especially in equids with neurological signs.

Descritores: micotoxinas, leucoencefalomalácia equina, epidemiologia, fumonisinas, equinos, muare.

Keywords: mycotoxins, equine leukoencephalomalacia, epidemiology, fumonisins, horses, mules.

Received: 12 July 2012

Accepted: 24 November 2012

Published: 28 May 2013

¹Departamento de Clínica Médica Veterinária, Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEV), Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT, Brazil. ²Fiscalização Estadual de Defesa Agropecuária (INDEA), Água Boa, MT, Brazil. ³Departamento de Microbiologia, Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brazil. ⁴Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Jaboticabal, SP, Brazil. CORRESPONDENCE: C.E.P. Santos [carlooseduardo@ufmt.br - Tel.: +55 (65) 3615-8614]. Departamento de Clínica Médica Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT). Av. Fernando Correa da Costa n. 2367, Bairro Boa Esperança. CEP 78068-900 Cuiabá, MT, Brazil.

INTRODUÇÃO

Micotoxinas são substâncias produzidas por fungos que desenvolvem em sementes de cereais, com efeitos tóxicos passíveis de causar doenças ou mesmo morte nos animais após consumo. A presença das micotoxinas em alimentos está sujeita a influência de diversos fatores ambientais, variando em razão de determinadas condições, como produção e armazenamento [1]. Dentre as micotoxinas de importância médica, destacam-se as fumonisinas, que são micotoxinas hidrossolúveis produzidas por *Fusarium verticillioides*, estáveis ao calor e resistentes ao tratamento com álcalis [1,8].

A ingestão de concentrado à base de milho e seus subprodutos, contaminados com fumonisinas, causa grave intoxicação em equídeos, cujas lesões se expressam na substância branca do cérebro, sendo conhecida como Leucoencefalomalácia (LEME) [13].

O fungo encontra-se normalmente no milho mofado podendo ser consumido sem efeitos deletérios, porém, em condições de armazenagem precárias, produzem micotoxinas. Temperaturas entre 20 e 25°C favorecem o crescimento do *Fusarium* spp. e temperaturas entre 8-12°C são requeridas para produção de toxinas [6]. Dentre estes metabólitos tóxicos, as fumonisinas (B1, B2, A1 e A2) possuem ação sobre o sistema nervoso central de equídeos, desenvolvendo sinais neurológicos súbitos, em virtude de necrose de liquefação da substância branca, com morte após evolução clínica de quatro a 72 h, podendo estender-se de uma a duas semanas [6,7].

Este relato tem por objetivo descrever e discutir os aspectos epidemiológicos, clínicos e de suporte diagnóstico de um surto de leucoencefalomalácia em equídeos, ocorrido em três propriedades rurais na região Leste de Mato Grosso, Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os dados obtidos foram subsidiados mediante consecutivas visitas em três propriedades rurais nos municípios de Canarana e Água Boa, localizadas na região Leste de Mato Grosso, Brasil, onde ocorreu mortalidade em 10 equídeos que desenvolveram leucoencefalomalácia (LEME), entre maio e agosto de 2010. Informações adicionais foram obtidas por inquérito dirigido aos proprietários e tratadores pelo serviço veterinário local oficial e privado.

As normais climatológicas da região basearam-se em dados compilados de estação meteorológica

convencional, de propriedade privada localizada em região próxima a ocorrência dos focos de LEME, coordenadas S 15°00'30" e W 52°17'13".

Alguns animais que apresentaram caráter de evolução crônico foram acompanhados com relação à evolução clínica e em outros, devido ao quadro de morte súbita, executou-se exame *post-mortem* e foram coletados fragmentos de sistema nervoso central, fígado, rins e pulmões, os quais foram fixados em formalina a 10% tamponada. Os fragmentos de tecidos foram processados para estudos histopatológicos, corados pela hematoxilina-eosina [5], junto ao Laboratório de Anatomia Patológica do Instituto Biológico de São Paulo (LAP 56478).

Quinhentos gramas da ração, composta por milho, que era utilizada como suplemento energético aos animais acometidos por LEME, foi remetida ao Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI), da Universidade Federal de Santa Maria e submetida a Análises por colunas de Imunoafinidade1 objetivando pesquisa e quantificação da micotoxina fumonisina [15].

RESULTADOS

Dados epidemiológicos estão dispostos nas Tabelas 1 e 2. Os equídeos eram criados em regime extensivo, sendo alguns lotes suplementados com ração composta basicamente por milho moído. Índices de mortalidade variaram de 12-71%, e de letalidade 100%. A enfermidade afetou seis equinos e quatro muares, machos e fêmeas, dois jovens (com nove e 18 meses) e oito adultos (acima de quatro anos).

A doença apresentou-se com evolução mais rápida (24-48 h do início dos sinais ao óbito), em equinos e muares adultos, nestes últimos prevalecendo quadro de morte súbita, sem nenhum sinal prévio, em animais submetidos ou não a exercícios. Nos casos de evolução mais lenta que prevaleceram nos potros, havia ataxia locomotora mais acentuada nos membros pélvicos, seguindo decúbito lateral e evoluindo para tetraparesia. Nestes, houve tentativa de terapia baseada em hidratação, soluções glicosadas, antiinflamatórios esteroidais, porém sem êxito.

Os exames *post-mortem* foram realizados em cinco equídeos, sendo quatro efetuados em muares com óbito natural e um equino eutanasiado *in extremis*. Não foram encontrados sinais macroscópicos significativos, exceto por coloração mais pálida em algumas áreas do fígado, distribuídas de modo aleatório e de formato cir-

cular. Foram avaliadas lesões histológicas de um muar e observou-se discreto infiltrado mononuclear no córtex, óbex e pedúnculo cerebelar. Observou-se no colículo rostral focos de necrose de substância branca com hemorragia, trombos e hemorragia no espaço de Virchow-Robin, além de edema perivascular. Na substância branca havia tumefação endotelial, focos de necrose da substância branca com células *gitter*. No fígado observou-se degeneração microgótica de hepatócitos com alguns focos de necrose de coagulação. Discreto infiltrado mononuclear difuso foi observado em rins, fígado e pulmões.

As normais climatológicas da região basearam-se em dados compilados de estação meteorológica con-

vencional em propriedade privada localizada em região próxima a ocorrência dos focos de LEME e ilustrados na Figura 1. Em 2010, ano de ocorrência dos surtos, a precipitação pluviométrica distribuiu-se de acordo com as médias de anos anteriores relativo às estações chuvosas e secas para a região, porém houve quedas de temperatura acentuadas e atípicas para a região nos meses de maio a agosto, com mínimas variando entre 9,3 a 11,3°C.

Na amostra de ração analisada foram detectados níveis de concentração de 6,6 ppm de fumonisina. Essa ração era fornecida aos animais como suplemento alimentar e estava associada aos surtos.

Tabela 1. Aspectos epidemiológicos dos quadros de leucoencefalomalácia nos equídeos em três propriedades rurais da região Leste de Mato Grosso, entre os meses de julho e agosto de 2010.

Propriedade	Espécie	Nº animais	Nº casos	Mortalidade	Letalidade
1*	Equinos	08	01	12,5%	100%
	Muares	07	00	00	00
2	Equinos	07	05	71,42%	100%
3**	Equinos	13	00	00	00
	Muares	26	04	15,38%	100%

*Somente equinos tinham acesso a ração a base de milho. **Somente muares utilizados para serviço tinham acesso a ração a base de milho.

Tabela 2. Síntese dos casos de LEME ocorridos na região Leste do estado de Mato Grosso em 2010.

Caso	Data	Espécie	Sexo	Idade (meses)	Curso clínico (dias)	Município
1	19/05/10	Equino	Fêmea	48m	2	Água Boa
2	21/07/10	Equino	Macho	9m	29	Canarana
3	22/07/10	Equino	Macho	↑48m	1	Canarana
4	23/07/10	Equino	Macho	↑48m	1	Canarana
5	01/08/10	Equino	Macho	96m	*	Canarana
6	12/08/10	Equino	Macho	9m	10	Canarana
7	16/08/10	Muar	NI	↑48m	*	Água Boa
8	16/08/10	Muar	NI	↑48m	*	Água Boa
9	17/08/10	Muar	NI	↑48m	*	Água Boa
10	17/08/10	Muar	Fêmea	↑48m	*	Água Boa

↑ Acima de 48 meses. NI Não informado. *Morte súbita.

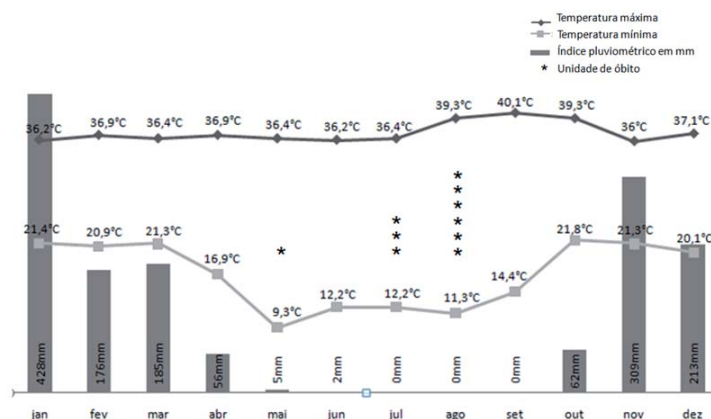


Figura 1. Demonstrativo da variação das normais climatológicas na região leste de Mato Grosso, municípios de Água Boa e Canarana, no ano de 2010, obtidas por estação meteorológica convencional e distribuição temporal de dez óbitos de equídeos por leucoencefalomalácia (LEME).

DISCUSSÃO

O diagnóstico presuntivo de leucoencefalomalácia foi consistente e embasado nos sinais clínicos e epidemiológicos. As alterações histológicas foram características e confirmatórias. Adicionalmente, a pesquisa de fumonisina na amostra de ração envolvida nos focos apresentou níveis tóxicos que corroboraram os resultados, justificando a evolução clínica nos equídeos que tiveram acesso a mesma.

Índices de mortalidade entre 12,5-71,42% e letalidade de 100% foram concordantes com a frequência de outros surtos descritos com diagnóstico de leucoencefalomalácia [1,4,14]. A maior incidência ocorreu em animais adultos (80%) com relação a animais jovens (20%), sendo que maior susceptibilidade em animais adultos, já foi apontada em outro relato [3]. Reforça este fato, a distribuição temporal da sobrevivência dos animais afetados variando com a idade. Nos dez casos da doença, a forma de maior cronicidade, foi verificada nos potros (2/20%) com nove meses de idade, com curso clínico de dez (1/10%) e vinte e nove dias (1/10%), a despeito dos animais adultos com curso variando de 24 h ao máximo de 48 h (3/30%) ou mesmo morte súbita (5/50%). Cabe ressaltar que ambas as categorias (jovens e adultos) recebiam a mesma suplementação, porém tentativas terapêuticas de suporte diversificadas envolvendo hidratação, complexos vitamínicos e energéticos injetáveis, embora culminando com insucesso, pode ter contribuído para um maior tempo de sobrevivência dos potros.

A relação dos óbitos por LEME com o consumo da ração contaminada por fumonisina foi marcante. Na apresentação de um dos focos, no lote de equinos destinados somente a reprodução e sem registro de casos, os animais eram criados em sistema extensivo e não tinham acesso à suplementação energética, contrariamente ao lote de muare, que destinados ao trabalho, recebiam suplementação diária, nos quais a mortalidade chegou a 15%. Na região é prática comum, suplementar animais de trabalho com milho em grãos ou seus derivados, por vezes, produzidos e estocados de maneira inadequada em períodos úmidos, fator que favorece o desenvolvimento do *Fusarium* spp. [6,8].

A maior concentração de casos ocorreu de 30 a 60 dias após períodos de temperaturas mais baixas, sendo que o primeiro ocorrera aproximadamente 15 dias após a menor temperatura, registrada no mês de maio (9°C), e os seguintes entre os meses de julho a agosto com temperaturas mínimas oscilando entre 10 e 12°C. O *Fusarium* é contaminante comum de grãos armazenados, porém só produz metabólitos tóxicos quando de condições que encerrem baixa temperatura e alta umidade [10]. Em condições experimentais, embora a quantidade de milho contaminado para produção da moléstia varie consideravelmente após fornecimento, sinais foram observados a partir do nono dia [3]. Baixa temperatura ambiente e umidade, provavelmente determinaram a produção de micotoxinas na ração dos equídeos envolvidos no foco. O ano de 2010 foi atípico na região Leste de Mato Grosso, pois se verificou baixas temperaturas por período relativamente longo,

fator considerado predisponente e determinante para a produção da micotoxina fumonisina. A sensibilidade de equídeos a fumonisina é bem conhecida. Reforça esta assertiva, o não registro de óbitos após a suspensão do fornecimento da ração aos equídeos no mesmo ano, a partir dos primeiros diagnósticos de LEME [6-8].

Embora na área dos focos de LEME, a suplementação energética dos equídeos é quase sempre feita com milho ou seus derivados, possivelmente as altas temperaturas regionais constantes em anos anteriores a 2010, não favoreceram a produção de metabólitos tóxicos pelos fungos, não se registrando óbitos na forma de surtos. Por outro lado, deve-se ressaltar que a enfermidade possa ser subestimada, considerando que práticas de necropsias a campo não é frequente entre técnicos, principalmente na ocorrência de mortes esporádicas e especialmente em equinos destinados a serviço.

Nos animais jovens com evolução mais lenta, prevaleceram sinais cerebrais e de tronco encefálico. Inicialmente apresentavam ataxia, mais acentuada nos membros pélvicos, culminando com decúbito. Pressão da cabeça e depressão profunda ocorria somente na condição terminal. Animais mais idosos desenvolvem sintomas clínicos mais rapidamente que animais mais jovens, parecendo ser mais sensíveis aos efeitos das micotoxinas [3]. Ainda, embora os sinais sejam distintos entre as espécies, nos equinos ocorre desenvolvimento de neurotoxicose de progressão rápida, caracterizada por depressão, cegueira, caminhar desorientado, parasília facial, coma e morte que pode ocorrer em 24 h ou em até uma semana após o início dos sinais clínicos [1,8]. Por vezes ocorre de forma súbita e alguns animais podem morrer agudamente sem exibir sintomas prodrômicos [3], apresentação clínica predominante nos muare desse estudo. Relatos com perfil evolutivo de morte súbita em muare não encontram subsídios na literatura compilada. Alguns autores descrevem nesta espécie, sinais clínicos compatíveis com lesões envolvendo o tronco encefálico [10], ou relacionados a cérebro e tronco encefálico [1]. Assim, considerando dados epidemiológicos e clínicos, o diagnóstico presuntivo de leucoencefalomalácia foi confirmado pela análise histopatológica dos tecidos analisados, caracterizados por necrose da substância branca do cérebro associada

a edema. Convém lembrar que nem sempre lesões de LEME são observadas macroscopicamente [2].

Níveis de concentração de 6,6 ppm de fumonisina na amostra de ração associadas aos focos de LEME, tornam consistente o diagnóstico, embora exista certa divergência entre autores quanto a níveis passíveis de toxicose, pois alguns relatam que concentração menor que 10ppm não se associa com enfermidade [9], porém, outros verificaram alto percentual de óbito (acima de 71%) em animais consumindo ração com concentrações em torno de 5 ppm [14], o mesmo ocorrendo neste surto. Ao que parece, rações com concentrações mais baixas de fumonisinas, entre 5 e 10 ppm já são suficientemente nocivas, determinando risco de óbito se consumidas por equídeos.

A apresentação clínica dos casos envolvidos no foco foi diversificada, facilmente confundível com outras afecções comuns dos equídeos [2,12], especialmente a raiva, enfermidade muito prevalente no Brasil e especialmente nessa região. De acordo com levantamento em outras regiões, como o Sul do Brasil, as enfermidades mais prevalentes relacionadas ao sistema nervoso de equídeos em rotina laboratorial envolveram leucoencefalomalácia, tétano e tripanossomíases [11]. Essa última, causada por *Trypanosoma evansi*, pode provocar malácia, fator de confundimento numa análise menos cautelosa, uma vez que essa lesão macroscópica era considerada patognomônica para LEME [12]. Assim, além de abordagens clínicas e epidemiológicas detalhadas, coleta e análise histopatológica são indispensáveis objetivando diagnóstico diferencial apropriado, especialmente em quadros que cursam com sinais neurológicos.

CONCLUSÃO

O surto de LEME diagnosticado na região leste de Mato Grosso em 2010 provavelmente foi associado às baixas temperaturas verificadas por período mais prolongado do que a média de anos anteriores na região dos focos. Esta característica ambiental é um fator determinante para produção de fumonisina pelo *Fusarium*. Atenção deve ser dirigida a alimentação de equídeos, evitando-se dietas a base de milho estocado em períodos de alta umidade e após quedas bruscas de temperatura ambiente.

SOURCE AND MANUFACTURER

¹VICAM®, A Waters Business, Milford, MA, USA.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

Acknowledgements. Ao Prof. J.R. Souza pelas críticas e sugestões e ao M.V.G. Müller pela cessão dos dados meteorológicos.

REFERENCES

- 1 Câmara A.C.L., Afonso J.A.B., Riet-Correa F., Dantas A.F.M., Mendonça C.L., Costa N.A., Dantas A.C., Costa Neto H.A., Campos A.N.S.S. & Souza M.I. 2008. Leucoencefalomalácia em equídeos no Estado de Pernambuco. *Ciência Animal Brasileira*. 9(2): 476-479.
- 2 Del Fava C., Lara M.C.C.S.H., Villalobos E.M.C., Nassar A.F.C., Cabral A.D., Torelli C.S., Cunha M.S. & Cunha E.M.S. 2010. Ocorrência de leucoencefalomalácia (LEME) em equídeos no Estado de São Paulo, Brasil: achados anatomopatológicos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. São Paulo. 47(6): 488-494.
- 3 George L.W. & Smith M.O. 2002. Leukoencephalomalacia. In: Smith B.P. (Ed). *Large Animal Internal Medicine*. 3rd edn. Saint Louis: Mosby, pp.937-938.
- 4 Giannitti F., Diab S.S., Pacin A. M., Barrandeguy M., Larrere C., Ortega J. & Uzal F.A. 2011. Equine leukoencephalomalacia (ELEM) due to fumonisins B1 and B2 in Argentina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 31(5): 407-412.
- 5 Luna L.G. 1968. *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3rd edn. New York: McGraw-Will, 258p.
- 6 Méndez M.C. & Riet-Correa F. 2007. Intoxicações por Plantas e Micotoxinas. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (Eds). *Doenças dos Ruminantes e Equinos*. v.2, Santa Maria: Palloti, pp.99-222.
- 7 Meireles M.A., Corrêa B., Fischman O., Gambale W., Paula C.R., Chacon-Reche N.O. & Pozzi C.R. 1994. Mycoflora of the toxic feeds associated with equine leukoencephalomalacia (ELEM) outbreaks in Brazil. *Mycopathology*. 127(1-2): 183-188.
- 8 Osweiler G.D. 1998. Micotoxinas. In: *Toxicologia Veterinária*. Porto Alegre: Artes Médicas, pp.461-463.
- 9 Reed S.M. & Bayly W.M. 1998. Diseases of specific body system. In: *Equine Internal Medicine*. Philadelphia: W.B. Saunders, pp.1010-1011.
- 10 Riet-Correa G., Duarte M.D., Cerqueira V.D. & Riet-Correa F. 2007. Leukoencephalomalacia in Mules in Northern Brazil. In: Panter K.E., Wierenga T.L. & Pfister J.A. (Eds). *Poisonous plants: Global Research and Solutions*. Wallingford: CABI Publishing, pp.256-262.
- 11 Rissi D.R., Pierezan F., Oliveira Filho J.C., Lucena R.B., Carmo P.M.S. & Barros C.S.L. 2010. Abordagem diagnóstica das principais doenças do sistema nervoso de ruminantes e equinos no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 30 (11): 958-967.
- 12 Rodrigues A., Figuera R.A., Souza T.M., Schild A.L. & Barros C.S.L. 2009. Neuropathology of naturally occurring Trypanosoma evansi infection of horses. *Veterinary Pathology*. 46(2): 251-258.
- 13 Ross P.F., Ledet A.E., Owens D.L., Rice L.G., Nelson H.A., Osweiler G.D. & Wilson T.M. 1993. Experimental equine leukoencephalomalacia, toxic hepatitis, and encephalopathy caused by corn naturally contaminated with fumonisins. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 5(1): 69-74.
- 14 Salles Gomes T.L., Almeida P.E., Moreira M., Canola J.C., Canola P.A. & Souza H.A. 2003. Surto de leucoencefalomalácia equina provocada por ração comercial com concentração de fumonisina inferior a 10 ppm. *ARS Veterinária*. 19(3): 267-271.
- 15 Santurio J.M., Dotto F.L., Barros C.L.S., Maluff F., Gris J., Oliveira F.N. & Alves S.H. 2002. Intoxicação espontânea e experimental por fumonisina em suínos no Brasil. *Acta Scientiae Veterinariae*. 30(3): 191-195.