

LEUCOENCEFALOMALÁCIA EM EQUINOS ASSOCIADA À INGESTÃO DE MILHO MOFADO¹

FRANKLIN RIET-CORREA², MARIO A. MEIRELLES², JEFFERSON M. SOARES³,
JOSÉ J. MACHADO⁴ E ANTONIO F. ZAMBRANO²

ABSTRACT.- Riet-Correa F., Meirelles M.A., Soares J.M., Machado J.J. & Zambrano A.F. 1982. [Equine leukoencephalomalacia associated with ingestion of moldy corn in three counties in southern Brazil.] Leucoencefalomalácia em equinos associada à ingestão de milho mofado. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 2(1):27-30. Convênio Embrapa/UFPEL, Faculdade de Veterinária, Campus Universitário, Pelotas, Rio Grande do Sul 96100, Brazil.

Three outbreaks of equine leukoencephalomalacia in three counties in Rio Grande do Sul are described. All cases occurred during the winter and were associated with the consumption of moldy corn. *Fusarium moniliforme* was isolated from corn collected during one of the outbreaks. Gross pathological examination showed liquefactive necrosis of the white matter of the cerebral hemispheres. Histopathological changes in the central nervous system were characterized by myelin and vascular degeneration, hemorrhages, edema, and perivascular cuffing with neutrophils, plasma cells, lymphocytes, macrophages and eosinophils. The most severe alterations were localized in the white matter of the cerebral hemispheres. The vascular lesions and demyelination found in the grey matter of the cerebral cortex, thalamus, colliculi and internal capsule were less severe. Lesions in the cerebellum, pons and medulla were discrete. The meninges were edematous, hemorrhagic and infiltrated with inflammatory cells.

INDEX TERMS: Equine leukoencephalomalacia, poisoning, mycotoxicosis, moldy corn, *Fusarium moniliforme*.

SINOPSE.- Descrevem-se três surtos de leucoencefalomalácia em equinos no Rio Grande do Sul. Todos os surtos ocorreram durante o inverno e foram associados à ingestão de milho mofado. Em um deles foi realizado o isolamento de *Fusarium moniliforme* do milho que estava sendo ingerido pelos animais. As lesões macroscópicas estiveram caracterizadas por necrose coliquativa da substância branca dos hemisférios cerebrais. As lesões histológicas do sistema nervoso central caracterizam-se por: desmielinização, edema, hemorragias, degeneração hialina das paredes vasculares e infiltração perivascular por neutrófilos, plasmócitos, linfócitos, macrófagos e eosinófilos. As lesões mais severas estavam localizadas na substância branca dos hemisférios cerebrais. Na substância cinzenta da córtex cerebral, tálamo, tubérculos quadrigêmeos e cápsula interna observaram-se lesões vasculares e desmielinização mais discretas que as da substância branca dos hemisférios cerebrais. No cerebelo, ponte e medula as lesões vasculares eram discretas não se observando lesões de desmielinização. As meninges apresentaram lesões vasculares severas, infiltração por células inflamatórias, edemas e hemorragias.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Equinos, leucoencefalomalácia, intoxicação, micotoxicose, milho mofado, *Fusarium moniliforme*.

INTRODUÇÃO

A leucoencefalomalácia é uma doença do sistema nervoso central dos equídeos caracterizada por necrose coliquativa da substância branca de um ou dos dois hemisférios cerebrais (Wilson et al. 1973).

Observações epidemiológicas e ensaios de alimentação indicaram que a enfermidade seria uma micotoxicose produzida pela ingestão de milho mofado (Graham 1936, Schwarte et al. 1937, Biester et al. 1940, Iwanoff et al. 1957, Badiali et al. 1968).

A doença foi reproduzida experimentalmente em burros e cavalos mediante a alimentação com milho contaminado experimentalmente por *Fusarium moniliforme* (Wilson & Maronpot 1971, Marasas et al. 1976, Haliburton et al. 1979).

O objetivo deste trabalho foi o de estudar uma doença com características da leucoencefalomalácia, em equinos no Rio Grande do Sul.

MATERIAL E MÉTODOS

Os dados clínicos e epidemiológicos foram observados em três surtos que ocorreram nos municípios de Santana da Boa Vista, Pelotas e Camaquã nos anos de 1979 e 1980. Para determinação das alterações patológicas foram necropsiados 3 cavalos, um de cada surto.

Após fixação em formol a 10%, o sistema nervoso central foi cortado em seções transversais de 2-4 mm de espessura para observação de lesões macroscópicas.

Seções da córtex cerebral, tálamo, cápsula interna, tubérculos quadrigêmeos, ponte, cerebelo, medula oblonga e medula cervical, dorsal e lombar foram embebidas em parafina e coradas pela técnica de hematoxilina e eosina (Luna 1968). Frag-

¹ Aceito para publicação em 18 de dezembro de 1981.

Um resumo deste trabalho foi apresentado no 17^o Congresso de Medicina Veterinária, Fortaleza, Ceará, 20-25 out. 1980.

² Convênio EMBRAPA/UFPEL, Faculdade de Veterinária, Campus Universitário, 96100 Pelotas, Rio Grande do Sul.

³ Secretaria de Agricultura do Rio Grande do Sul, Santana da Boa Vista, RS.

⁴ CYANAMID Química do Brasil Ltda, Pelotas, RS.

mentos dos demais órgãos foram processados pela mesma técnica.

Amostras de grãos de milho provenientes do surto que ocorreu no município de Camaquã, retiradas ao acaso, foram colocadas em frascos de Erlenmayer de 250 ml, contendo 100 ml de solução de hipocloreto de sódio a 5% e agitadas durante 5 minutos para, posteriormente, serem levadas a estufa a 37°C durante 15 minutos. Após a secagem, o milho foi semeado em placas de Petri contendo o meio de ágar Sabourau (Lacaz 1977) e um segundo meio com 2% de ágar extrato de malte, 20 unidades de benzil penicilina e 40 g de estreptomicina por ml acrescido de 8,8% de cloreto de sódio e 100 ml de extrato de milho. O extrato de milho foi preparado com 12,8 g de farinha de milho amarela em 300 ml de água destilada, aquecido a 60°C durante 60 minutos, filtrado e reconstituído o volume inicial.

As placas foram incubadas à temperatura ambiente durante três semanas e o controle do crescimento foi feito com observações semanais.

RESULTADOS

Epidemiologia

Surto 1. Ocorreu no município de Santana da Boa Vista; foram afetados 8 eqüinos entre 10 durante um período de dois anos. O diagnóstico foi realizado em julho de 1979.

Surto 2. Ocorreu no município de Pelotas durante julho e agosto de 1979. Morreram três animais do total de 12. O terceiro animal morreu 12 dias após ter deixado de ingerir milho.

Surto 3. Ocorreu no município de Camaquã, em julho de 1980; morreram 2 dos 15 eqüinos.

Nos três surtos citados, os eqüinos estavam sendo alimentados com milho mofado, observando-se grãos com crescimento superficial de fungos de cor gris-esverdeada e outros grãos impregnados com um pigmento de coloração púrpura.

Sintomas clínicos e evolução

Os sintomas caracterizam-se por inapetência, seguida de sintomas nervosos evidenciados por transtornos na locomoção, tendência a permanecer com os membros anteriores cruzados, batidas contra cercas e objetos, movimento de torção e, em alguns casos, cegueira. A letalidade foi de 100% e as mortes se produziram entre 12 e 24 horas após serem observados os primeiros sintomas.

Patologia

Alterações macroscópicas

Na abertura da cavidade craniana, observou-se, nos três animais necropsiados, aumento de tamanho de um hemisfério cerebral, com achatamento das circunvoluções.

No corte transversal do encéfalo, após a fixação em formol, foram observadas lesões de necrose coliquativa e cavitação da substância branca (Fig. 1), rodeada por uma área de cor amarelada, com hemorragias. Em dois animais (Eqüinos nº 1 e 2), as lesões estavam localizadas em um só hemisfério cerebral, enquanto que no terceiro (Eqüino nº 3) as lesões eram bilaterais; no hemisfério menos afetado observou-se coloração amarelada e áreas de hemorragias, não se observando cavitação.

Com relação aos outros sistemas, as únicas lesões observadas foram edema pulmonar em um caso (Eqüino nº 2) e discretas hemorragias intestinais e hemorragias petequiais no rim, em outro caso (Eqüino nº 1).

Alterações histológicas

Nos hemisférios cerebrais, as lesões estavam localizadas principalmente na substância branca, onde se observaram áreas de necrose coliquativa. Na periferia destas áreas os vasos sanguíneos apresentavam edema e degeneração hialina da parede vascular assim como hiperplasia e tumefação das células endoteliais e infiltração intramural de neutrófilos. No espaço de Virchow-Robin, apreciava-se infiltração perivascular de neutrófilos, plasmócitos, linfócitos (Fig. 2) e em dois dos três cavalos (Eqüinos nº 1 e 2) numerosos eosinófilos. Frequentemente se observaram edema e hemorragias perivasculares.

A desmielinização estava caracterizada por áreas de microcavitação (Fig. 3), presença de numerosos elipsóides e macrófatos "gitter cells". Outras lesões observadas eram: edema, hemorragias, gliose difusa, picnose dos núcleos das células da glia e infiltração de neutrófilos.

Na substância cinzenta as alterações eram de menor grau que na substância branca, apreciando-se lesões vasculares e hemorragias. Os neurônios apresentaram sinais de degeneração neuronal caracterizadas por cromatólise central, acidofilia e neurônios contraídos e hiperromáticos. Nas áreas mais próximas à substância branca, apreciava-se microcavitação, formação de elipsóides e presença de macrófagos.

Tálamo, cápsula interna e tubérculos quadrigêmeos apresentaram lesões vasculares e hemorragias similares às observadas na córtex cerebral, e desmielinização discreta caracterizada pela presença de elipsóides e escassos macrófagos.

No cerebelo, pedúnculos cerebelares e ponte, as lesões eram caracterizadas por escassas hemorragias e lesões vasculares evidenciadas por discreta degeneração da parede e hiperplasia do endotélio vascular.

Um dos casos (Eqüino nº 2) apresentava lesões muito discretas na medula espinhal, observando-se escassos vasos com lesões degenerativas e algumas hemorragias.

Nas meninges dos três animais constatou-se severo edema e infiltração de células inflamatórias similares às descritas no espaço de Virchow-Robin; em dois animais (Eqüinos nº 1 e 2) observaram-se também numerosos eosinófilos (Fig. 4).

Micologia

No ágar Sabourau verificou-se crescimento exuberante de fungos, não se observando colônias isoladas. No meio seletivo foram obtidas colônias isoladas, as quais foram repicadas para ágar Sabourau em tubo inclinado.

Três gêneros de fungos foram isolados: *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp. e *Fusarium* sp., com predominância do último.

Dos três gêneros, somente *Fusarium* foi estudado detalhadamente, chegando-se a duas espécies, que foram classificadas como *Fusarium moniliforme* e *Fusarium solani*, segundo Booth (1971). O primeiro apresentava colônias púrpura-claras com pigmento difuso no meio a partir do 4º dia e com microconídios em cadeia, e o segundo apresentava colônias cinza-azuladas com pigmento escuro que se difundia no meio, e os microconídios em fialide simples.

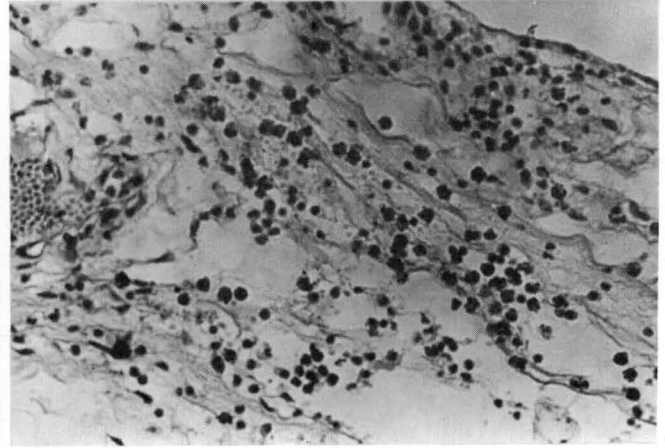
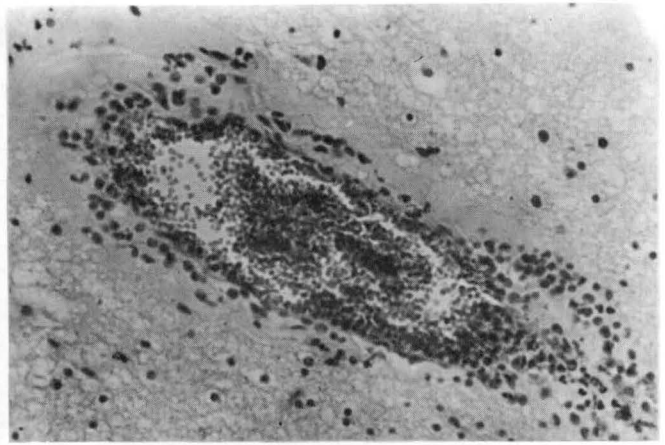
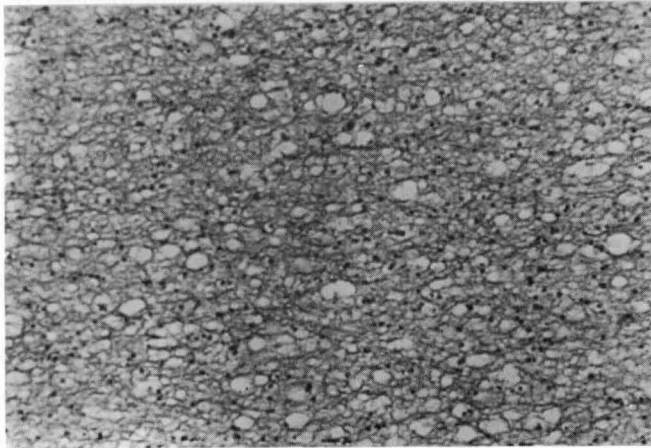


Fig. 1. Corte transversal do encéfalo, mostrando áreas de necrose coliquativa da substância branca e aumento de volume no hemisfério cerebral direito (Equino nº 3).

Fig. 3. Substância branca da córtex cerebral, mostrando microcavitação e formação de elipsóides (Equino nº 3). H.-E. Obj. 10.

Fig. 2. Vaso sanguíneo da substância branca da córtex cerebral, mostrando degeneração de parede vascular, edema e infiltração perivascular de linfócitos, plasmócitos, macrófagos e neutrófilos (Equino nº 3). H.-E. Obj. 20.

Fig. 4. Meninges, mostrando edema, hemorragias e infiltração de células inflamatórias, principalmente eosinófilos (Equino nº 2). H.-E. Obj. 20.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A doença observada no Rio Grande do Sul, nos seus aspectos clínicos e alterações macroscópicas, tem as características da leucoencefalomalácia dos eqüinos, descrita anteriormente em outros países (Graham 1936, Schwarte et al. 1937, Biester et al. 1940, Iwanoff et al. 1957, Badiali et al. 1968, Marasas et al. 1976). As lesões de necrose coliquativa da substância branca dos hemisférios cerebrais são consideradas como patognômicas da enfermidade (Wilson et al. 1973). A observação deste tipo de lesão nas três necropsias realizadas e o fato de que nos três surtos os animais estavam ingerindo milho mofado, evidenciam que, do mesmo modo que ocorre em outros países (Graham 1936, Schwarte et al. 1937, Biester et al. 1940, Iwanoff et al. 1957, Badiali 1968, Marasas et al. 1976), a doença é produzida pela ingestão de milho contaminado por fungos.

O isolamento de *Fusarium moniliforme*, identificado como causa de contaminação do milho indica a possibilidade de que a doença seja produzida por toxinas desse fungo, o que foi de-

monstrado em experimentos de reprodução experimental em burros (Wilson e Maronpot 1971, Haliburton et al. 1979) e cavalos (Marasas et al. 1976).

As lesões histológicas, caracterizadas por degeneração da mielina, degeneração das paredes vasculares, edema, hemorragias e acúmulo perivascular de diferentes tipos de células, são similares às descritas por Marasas et al. (1976), e diferem das descrições anteriores da enfermidade, que se referiam somente a lesões degenerativas, edemas e hemorragias (Graham 1936, Schwarte et al. 1937, Biester et al. 1940).

Com relação à localização das lesões histológicas, foi visto que o processo degenerativo afeta em diferentes graus diversas áreas do sistema nervoso central.

As lesões mais severas localizam-se na substância branca dos hemisférios cerebrais, o que é coincidente com os trabalhos citados anteriormente. Alterações similares às observadas nestes casos na substância cinzenta da córtex cerebral, foram descritas por Marasas et al. (1976) e por Iwanoff et al. (1957).

Nas restantes áreas do mesencéfalo e diencefalo as lesões vasculares são similares às dos hemisférios cerebrais, enquanto

que a degeneração da mielina é mais discreta. No cerebelo, ponte e medula as lesões são exclusivamente vasculares. Trabalhos anteriores mencionam lesões degenerativas na medula espinhal (Schwarte et al. 1937, Biester et al. 1940, Iwanoff et al. 1957) cerebelo (Schwarte et al. 1937, Iwanoff et al. 1957) ponte e pedúnculos cerebrais (Schwarte et al. 1937).

Fica evidente que não existe coincidência nas diferentes descrições das alterações histológicas da enfermidade. Esta discordância poderia ser, em parte, devido a que, em alguns trabalhos mencionados anteriormente, as descrições das lesões não são detalhadas no referente a tipo e localização; apesar disso, Wilson et al. (1973) mencionam como provável causa dessa discordância a possibilidade da participação de diferentes fungos na etiologia da doença.

O fato de terem os três surtos ocorrido durante os meses de julho e agosto indica que a doença tem ocorrência principalmente no inverno. Esta ocorrência estacional da enfermidade foi observada anteriormente em Illinois, nos E.U.A., onde os surtos ocorreram no outono após verão seco em 1934 e 1935 (Graham, 1936), e em Iowa, no mesmo país, onde os surtos ocorreram no inverno e primavera (Schwarte et al. 1937). A doença é também estacional na China (Iwanoff et al. 1957) e no Egito, onde ocorre no outono após as enchentes anuais do Rio Nilo (Badiali et al. 1968).

O diagnóstico de leucoencefalomalácia em eqüinos do Rio Grande do Sul indica a possibilidade de esta doença produzir perdas econômicas importantes. Portanto, deve ser levada em consideração no diagnóstico diferencial com outras doenças do sistema nervoso central dos eqüinos que ocorrem no Brasil, das quais a raiva e a encefalomielite eqüina são as mais conhecidas.

REFERÊNCIAS

- Badiali L., Abou Youssef M.F., Radwan A.I., Hamdy F.M. & Hildebrandt P.K. 1968. Moldy corn poisoning as the major cause of an encephalomalacia syndrome in Egyptian equidae. *Am. J. Vet. Res.* 29:2029-2035.
- Biester H.E., Schwarte L.H. & Reddy C.H. 1940. Further studies on moldy corn poisoning (leukoencephalomalacia) in horses. *Vet. Med.* 35:636-639.
- Booth C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, p. 237.
- Graham R. 1936. Toxic encephalitis or non-virus encephalomyelitis of horses. *Vet. Med.* 31:46-50.
- Haliburton J.C., Vesonder R.F., Lock T.F. & Buch W.B. 1979. Equine leukoencephalomalacia (ELEM). A study of *Fusarium moniliforme* as an etiologic agent. *Veterinary and Human Toxicology* 21:384-351.
- Iwanoff X., Chang-Kuo Y. & Shih-Chieh, F. 1957. Ueber die toxische Enzephalomalazie (Moldy corn poisoning) der Einhufer in China. *Arch. Exp. Vet. Med.* 11:1036-1056.
- Lacaz C.S. 1977. *Micologia médica*, 6ª ed. Sarvier, São Paulo, p. 75.
- Luna G.L. 1968. *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3rd ed. McGraw-Hill, New York, p. 258.
- Marasas W.F.O., Kellerman T.J., Pienaar J.G. & Naudé T.W. 1976. Leukoencephalomalacia: a micotoxicosis of equidae caused by *Fusarium moniliforme* Sheldon. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 43: 113-122.
- Schwarte L.H., Biester H.E. & Murray C. 1937. A disease of horses caused by feeding moldy corn. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 90:76-85.
- Wilson B.J. & Maronpot R.R. 1971. Causative fungus agent of leukoencephalomalacia in equine animals. *Vet. Rec.* 88:484-486.
- Wilson B.J., Maronpot R.R. & Hildebrandt P.K. 1973. Equine leukoencephalomalacia. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 163:1293-1295.