

Leucoencefalomalacia en equinos en el litoral oeste de Uruguay



Leukoencephalomalacia in equine on the West coast of Uruguay

Rivero R¹*; Collazo S²; Ugarte E³; Nan F³; Mazzolini Y³; Matto C.¹

Recibido: 00/Mes/2013
Aprobado: 00/Mes/2013

RESUMEN

Se describen tres focos de leucoencefalomalacia en equinos diagnosticados por el Laboratorio Regional Noroeste DILAVE “Miguel C. Rubino”. Los mismos se presentaron en verano y primavera temprana, asociados al consumo de maíz. En los dos primeros focos se afectó un solo equino, mientras que en el tercero de 15 animales enfermaron y murieron 7 (morbilidad y mortalidad 47%), siendo en los tres brotes la letalidad del 100%. Las lesiones macroscópicas más destacadas se observaron en el sistema nervioso central con áreas amarillas multifocales de reblandecimiento, cavitación y hemorragias, afectando la sustancia blanca principalmente a nivel del tálamo, hipocampo, núcleo caudado y áreas del tronco encefálico. En la histopatología del sistema nervioso central se encontraron áreas de malacia y vacuolización de la sustancia blanca, rodeadas por edema y hemorragias con cambios degenerativos en el endotelio vascular. En el hígado de uno de los animales examinados, había lesiones degenerativas, consistentes con necrosis periácinar hemorrágica y vacuolización de los hepatoci-

SUMMARY

Three outbreaks of equine leukoencephalomalacia diagnosed by the Northwest Regional Laboratory DILAVE “Miguel C. Rubino” are described. All of them occurred in summer and early spring associated with ingestion of corn. In the first two outbreaks only one equine was affected respectively, while in the third one, 7 of 15 animals showed symptoms and died (morbidity and mortality 47%); being the lethality 100% in the three situations. The main gross lesions were observed in the central nervous system with multifocal yellow areas of softening, cavitation and hemorrhage on the white matter, mainly in the thalamus, hippocampus, caudate nucleus and brain-stem areas. At the histopathology areas of malacia and vacuolation of white matter, surrounded by edema and hemorrhage with degenerative changes in the vascular endothelium were found. One of the affected animals had degenerative lesions in the liver, consistent with periacinar hemorrhagic necrosis and vacuolation of midzonal hepatocytes. In the third outbreak, it was determined the concentration of fumonisins in

¹ Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Av. Italia 3318, CP 11600, Montevideo, Uruguay.

² Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Veterinaria, Udelar. Lasplacés 1550, CP 11600, Montevideo, Uruguay
*: Autor para correspondencia, e-mail: pmzunino@gmail.com

tos mediozonales. En el tercer foco como complemento al diagnóstico, se realizó la determinación de la presencia de fumonisinas en el maíz a través de la técnica de ELISA competitivo, con un resultado de 6,91 µg/g.

Palabras clave: Leucoencefalomalacia equina, micotoxinas, Fusarium.

the corn through a competitive ELISA, with a result of 6,91 µg/g.

PALABRAS CLAVE:

Leucoencefalomalacia equina, micotoxinas, Fusarium.

KEYWORDS:

Equine leukoencephalomalacia, micotoxins, Fusarium.

INTRODUCCIÓN

La leucoencefalomalacia es una enfermedad de etiología tóxica que afecta a los equinos causada por la ingestión de maíz contaminado por micotoxinas (fumonisinas) producidas por varias especies del género *Fusarium*, principalmente *F. verticillioides* (antiguamente *F. moniliforme*) y *F. proliferatum*. Han sido identificadas como A1, A2, B1, B2 y B3 siendo la fumonisina B1 la más importante, ya que constituye el 70% del total de las micotoxinas presentes en el maíz, además de ser la más comúnmente asociada con casos de leucoencefalomalacia (Marasas y col., 1988; Ross y col., 1993; Ross y col., 1994). La patología se ha registrado en animales que consumen granos de maíz enteros o quebrados como único componente de la dieta o mezclados con otros productos como melaza, avena, raciones peleteadas o a través del pastoreo en diferido de plantas de maíz contaminadas por el hongo (Ross y col., 1991; Giannitti y col., 2011). La fumonisina provoca necrosis licuefactiva de la sustancia blanca de uno o los dos hemisferios cerebrales y tronco encefálico. En algunos casos espontáneos y experimentales, también se han descrito lesiones a nivel hepático (Marasas y col., 1988; Ross y col. 1993).

La patogenia de la leucoencefalomalacia aún no está totalmente comprendida. Según Beasley (1999) la fumonisina B1 inhibe la acción de la enzima esfingosina-N-acetiltransferasa, responsable de la síntesis de esfingolípidos, sustancias que regulan el crecimiento y diferenciación celular. Alteraciones en la concentración y función de los esfingolípidos, especialmente a nivel de los endotelios vasculares, contribuirían a un incremento de los signos y lesiones en las intoxicaciones por fumonisinas (Beasley, 1999). En el sur de Brasil y Argentina la enfermedad se presenta más comúnmente en los meses fríos del año, momento en que los animales son suplementados (Riet-Correa y col., 1982; Barros y col., 1984; Giannitti y col., 2011a). En Uruguay, si bien no han sido reportados, se han registrado casos de esta intoxicación por el Departamento de Patobiología del Laboratorio Central y por el Laboratorio Regional Este de la DILAVE “Miguel C. Rubino” (Easton C. y Dutra F. Com. Pers. 2012).

El objetivo de este trabajo es describir los aspectos epidemiológicos, clínicos y patológicos de tres focos de leucoencefalomalacia diagnosticados por el Laboratorio Regional Noroeste DILAVE “Miguel C. Rubino”.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los datos epidemiológicos y clínicos fueron colectados durante las visitas realizadas a los tres predios afectados. Dos focos ocurrieron en el Departamento de Paysandú en el año 2005, donde se practicó la necropsia de un equino en cada foco. Se registró un tercer foco en 2010 en el Departamento de Río Negro donde se autopsiaron 2 animales.

Los órganos obtenidos en las cuatro necropsias realizadas fueron procesados por la sección histopatología del Laboratorio Regional Noroeste de la DILAVE “Miguel C. Rubino”, donde fueron fijadas en formol bufferado al 10%, embebidas en parafina, cortadas en secciones de 5 micras de espesor y teñidas con hematoxilina y eosina (HE).

Se tomaron muestras de silo de maíz del tercer foco para realizar estudios en la sección Toxicología del Laboratorio Central de la DILAVE. Se utilizó un ELISA competitivo para análisis cuantitativo de Fumonisina (Ridascreen® Fast Fumonisin) con un límite de detección de 0,222 µg/g (GIPSA-USDA, 2010).

RESULTADOS

Epidemiología y signos clínicos

El primer foco se registró en Febrero de 2005, en el Departamento de Paysandú, donde se afectó un animal raza Pura Sangre de Carrera de 6 años, que era suplementado con maíz y avena en grano, asociado a heno de alfalfa. El mismo presentó anorexia, trastornos en la locomoción, choque contra objetos, ceguera y muerte 24 horas después del inicio de los síntomas.

El segundo foco ocurrió en Octubre de 2005, en la sexta seccional policial de Paysandú, donde se concurrió ante un caso de un equino hembra, de 4

años de edad, raza Cuarto de Milla que presentaba sintomatología nerviosa. Los síntomas clínicos eran depresión, ceguera, apoyo de cabeza contra objetos, posteriormente decúbito con coma profundo hasta la muerte. La misma era alimentada con maíz que se utilizaba en la dieta de un corral de engorde de novillos del predio. No se registraron casos de mortalidad en bovinos asociado al consumo de este cereal.

En el mes de Setiembre de 2010 se visitó un predio de la cuarta seccional policial de Río Negro ante la consulta por un cuadro colectivo de equinos con sintomatología nerviosa y muerte. Se trataba de 15 animales adultos que eran utilizados para realizar las tareas de campo y que diariamente se los suplementaba con maíz, de los cuales enfermaron 7. El mismo se componía de granos de baja calidad, almacenados en bolsas para silo de grano húmedo. Los granos presentaban una película marrón clara y aspecto mohoso. Los animales afectados presentaron ataxia, ceguera, apoyo de cabeza contra objetos, depresión y muerte. La morbilidad y mortalidad registrada fue de 47%, letalidad 100%.

Hallazgos anátomo-patológicos

En las necropsias realizadas los principales hallazgos macroscópicos se restringían al sistema nervioso central, el mismo presentaba áreas multifocales amarillentas de reblandecimiento, hemorragias y necrosis de la sustancia blanca a nivel de hemisferios cerebrales y tronco cerebral (mesencéfalo, protuberancia anular y bulbo raquídeo) (Figura 1).

En la histopatología se observó a nivel de corteza cerebral severa congestión meníngea con discreta infiltración por polimorfonucleares y eosinófilos. La sustancia gris cortical presentaba moderado edema perineuronal y perivascular, algunas áreas pequeñas de necrosis licuefactiva asociado a hemorragias y congestión, gliosis difusa, presencia de manguitos



Figura 1. Equino. Mesencéfalo. Hemorragia y malacia focal de la sustancia blanca.

perivasculares, edema astrocitario. Las zonas basales del encéfalo y tronco encefálico presentaban áreas extensas de necrosis licuefactiva de la sustancia blanca, con hemorragias y áreas de severa vacuolización con escasa infiltración por polimorfonucleares, presencia de células de Gitter, con cambios degenerativos en el endotelio vascular (Figura 2). En el cerebelo había vacuolización de la sustancia blanca, hemorragias en la capa molecular, discreta infiltración perivascular por mononucleares y congestión.

En el tercer foco uno de los equinos afectados presentaba en hígado necrosis centrolobulillar hemorrágica difusa con vacuolización de los hepatocitos

mediozonales, hipertrofia de las células de Kupffer y presencia de algunos acúmulos de macrófagos.

Toxicología:

En las muestras de maíz provenientes del tercer foco se determinó la presencia de 6,91 $\mu\text{g/g}$ de Fumonisin, resultando negativo a Aflatoxinas.

DISCUSIÓN

Tomando en cuenta los antecedentes de alimentación con maíz, signos clínicos, hallazgos macroscópicos y lesiones histopatológicas observadas a nivel del sistema nervioso central en los tres focos, son car-

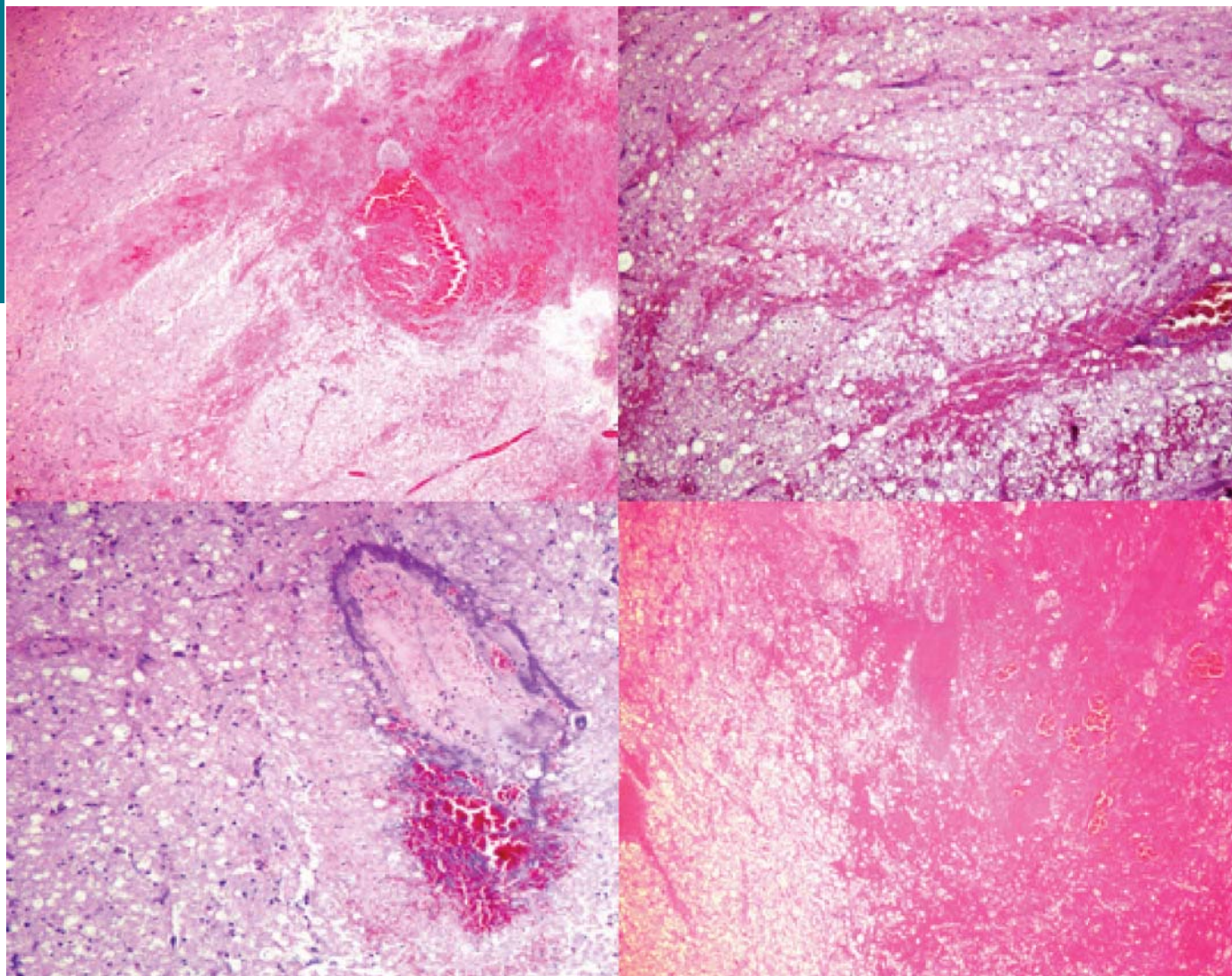


Figura 2. Equino. Leucoencefalomalacia.

A: Tálamo, trombosis vascular, hemorragias, presencia de edema proteinaceo eosinofílico y área de malacia en la sustancia blanca. HE, 150x. - **B:** Mesencéfalo, vacuolización difusa de la sustancia blanca con hemorragias multifocales a coalescentes. HE, 150x. - **C:** Mesencéfalo, trombosis vascular, cambios degenerativos en el endotelio vascular, hemorragia perivascular. HE, 600x. - **D:** Puente: Área focalmente extensa de malacia de la sustancia blanca con hemorragias, congestión y edema proteinaceo eosinofílico.

acterísticos de un cuadro de Leucoencefalomalacia (LEM) por contaminación del maíz con *Fusarium verticillioides*. En el tercer foco se suma además como elemento adicional, el nivel de fumonisinas detectado en el maíz, lo que permite una confirmación del diagnóstico. Años atrás solo existía el aislamiento fúngico y la patología como herramientas para identificar la enfermedad, lo que implica un avance en el

diagnóstico de esta intoxicación.

Según Ross y col. (1991) alimentos que contengan más de 10 µg/g de fumonisina B1 no es recomendable que se utilicen para la alimentación de los equinos. Por otra parte los mismos autores, reportaron casos de LEM donde el nivel de B1 oscilaba entre 1 a 126 µg/g. Este margen de variación en las dosis que provocan intoxicación en los equinos, sugiere que los

animales tienen una susceptibilidad diferente frente a la fumonisina, tal como lo plantean posteriormente en otro trabajo Ross y col. (1993). Esto explicaría lo observado en el tercer foco, donde si bien todos los animales eran suplementados con maíz, solo enfermó el 47% de la población en riesgo.

En uno de los animales intoxicados espontáneamente se observaron alteraciones degenerativas a nivel hepático, caracterizada por necrosis centrolobulillar hemorrágica difusa con vacuolización de los hepatocitos mediozonales. Similares hallazgos son reportados por Marasas y col. (1988) y Ross y col. (1993). Estos últimos alimentaron equinos de raza Pony con cantidades conocidas de fumonisina B1 provocando un cuadro clínico de LEM y observaron varias lesiones en hígado como: vacuolización difusa y severa de los hepatocitos, degeneración y/o necrosis de los mismos, hemorragias, moderada infiltración mononuclear y granulocitaria y proliferación de tejido conectivo. Asimismo, realizaron determinaciones séricas de aspartato amino transferasa, gammaglutamil transpeptidasa y fosfatasa alcalina registrando incrementos significativos de los niveles enzimáticos. Esto sugiere que las fumonisinas tendrían también un efecto hepatotóxico importante en los equinos.

Si bien en el tercer foco no fue posible determinar que subtipo de fumonisina fue la responsable del mismo, tomando en cuenta las reproducciones experimentales realizadas, se reconoce tanto a B1 como B2 como las micotoxinas que provocan lesiones degenerativas a nivel del sistema nervioso central (Marasas y col., 1988; Ross y col., 1993; Ross y col., 1994).

Según diferentes autores que han reportado focos de intoxicación en el sur de Brasil y Argentina la enfermedad es estacional, ya que los casos se concentran principalmente entre Junio a Setiembre, coincidente con el invierno en el Hemisferio Sur, período en

el que los animales son suplementados (Riet-Correa y col., 1982; Barros y col. 1984, Giannitti y col., 2011a). Si bien en este trabajo los focos registrados se observaron en verano y primavera temprana, es probable que las formas de almacenamiento y/o conservación del maíz tengan un rol importante en el desarrollo del *Fusarium* sp. Por otro lado, en los focos descritos por Barros y col. (1984) se observó como factor predisponente para la aparición de casos de leucoencefalomalacia, presencia de ciertas condiciones climáticas en el período previo a la cosecha del maíz (alta precipitación pluviométrica y menor índice de insolación). Estas condiciones se observaron en el foco del año 2010, donde se presentó un verano lluvioso en la región litoral oeste, previo a la cosecha y almacenaje de este cereal (INIA-GRAS, 2012).

La ausencia de lesiones histopatológicas inflamatorias y/o degenerativas específicas en el sistema nervioso central, asociadas a la epidemiología y signos clínicos observados, permiten descartar otras enfermedades que causan sintomatología nerviosa en equinos como: encefalomiелitis vírica (tipo occidental, oriental y venezolana), rabia, Fiebre del Nilo occidental, mieloencefalopatía por herpesvirus (HVE-1), intoxicación por *Centaurea solstitialis* o *Senecio* spp., tétanos, intoxicación por plomo y botulismo (Radostits y col., 2002; Rivero y col., 2011).

El diagnóstico de Leucoencefalomalacia se basa en los síntomas nerviosos causados por las alteraciones en cerebro y tronco encefálico, historia de consumo de maíz o productos que lo contengan y la presencia de lesiones degenerativas en la sustancia blanca del sistema nervioso central. Actualmente se le suman técnicas como el ELISA, HPLC (cromatografía líquida de alto rendimiento derivado de fluorescamina) o TLC (cromatografía en capa fina), que

permiten la identificación y determinación de las micotoxinas presentes en los alimentos para equinos. Estas herramientas podrían utilizarse para la determinación de niveles de fumonisinas previo a la suplementación de los animales.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Barros CSL, Barros SS, Santos MN, Souza MA. (1984). Leucoencefalomalácia em equinos no Rio Grande do Sul. *Pesq Vet Bras* 4:101-107.
2. Beasley V. (1999). Toxicants with mixed effects on the central nervous system. Disponible en: http://www.ivis.org/advances/Beasley/Cp2D/chapter_frm.asp?LA=1#Fumonisin. Fecha consulta 24/10/2012
3. Giannitti F, Diab SS, Pacin AM, Barrandeguy M, Larrere C, Ortega J, Uzal FA. (2011a). Equine leukoencephalomalacia (ELEM) due to fumonisins B1 and B2 in Argentina. *Pesq Vet Bras* 31:407-412.
4. Giannitti F, Odriozola E, Margineda CA, Fernández E, Cámpora L, Weber N, Clemente G, García JP, Campero M. (2011). Leucoencefalomalacia equina por pastoreo de maíz contaminado con fumonisinas en Argentina. *Veterinaria (Argentina)*. Disponible en: <http://www.veterinariargentina.com/revista/2011/09/leucoencefalomalacia-equina-por-pastoreo-de-maiz-contaminado-con-fumonisin-as-en-argentina/>
5. GIPSA-USDA (2010) Disponible en: www.gipsa.usda.gov/fgis/tech-servsup/metheqp/fumonisin_criteria Text versión. Fecha de consulta: 24/10/2012.
6. INIA GRAS (2012) Disponible en: <http://www.inia.org.uy/online/site/684740I1.php>. Fecha consulta 24/10/2012
7. Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. (2002). *Medicina Veterinaria*. 9a. ed., Madrid, Ed. Mc Graw-Hill-Interamericana. 2215 p., 2 v.
8. Riet-Correa F, Meirelles MA, Soares JM, Machado JJ, Zambrano AF. (1982). Leucoencefalomalácia em eqüinos associada à ingestão de milho mofado. *Pesq Vet Bras* 2:27-30.
9. Rivero R, Matto C, Adrien ML, Alvarez V. (2011). Intoxicación por *Senecio* spp. (Asteraceae) en equinos en Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)* 47:29-32.
10. Ross PF, Nelson PE, Owens DL, Rice LG, Nelson HA, Osweiler GD, Wilson TM. (1994). Fumonisin B2 in cultured *Fusarium proliferatum*, M-6104, causes equine leukoencephalomalacia. *J Vet Diagn Invest* 6:263-265.
11. Ross PF, Ledet AE, Owens DL, Rice LG, Nelson HA, Osweiler GD, Wilson TM. (1993). Experimental equine leukoencephalomalacia, toxic hepatitis, and encephalopathy caused by corn naturally contaminated with fumonisins. *J Vet Diagn Invest* 5:69-74.
12. Ross PF, Rice LG, Reagor JC, Osweiler GD, Wilson TM, Nelson HA, Owens DL, Plattner RD, Harlin KA, Richard JL, Colvin BM, Banton MI. (1991). Fumonisin B1 concentrations in feeds from 45 confirmed equine leukoencephalomalacia cases. *J Vet Diagn Invest* 3:238-241.
13. Marasas WFO, Kellerman TS, Gelderblom WCA, Coetzer JAW, Thiel PG, van der Lugt JJ. (1988). Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B1 isolated from *Fusarium moniliforme*. *Onderstepoort J Vet Res* 55:197-203.