

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**POLIOENCEFALOMALACIA EM RUMINANTES**

**TESE DE DOUTORADO**

**Fabiano José Ferreira de Sant'Ana**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2010**

# **POLIOENCEFALOMALACIA EM RUMINANTES**

**por**

**Fabiano José Ferreira de Sant'Ana**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia Veterinária, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Doutor em Medicina Veterinária**

**Orientador: Prof. Claudio Severo Lombardo de Barros**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2010**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Tese de Doutorado

**POLIOENCEFALOMALACIA EM RUMINANTES**

elaborada por  
**Fabiano José Ferreira de Sant'Ana**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Doutor em Medicina Veterinária**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

**Claudio S. L. de Barros, PhD**  
(Presidente/Orientador)

**David Driemeier, Dr.**  
(UFRGS)

**Ana Lucia Schild, Dra.**  
(UFPeI)

**Ricardo Antonio Amaral de Lemos, Dr.**  
(UFMS)

**Glaucia Denise Kommers, PhD**  
(UFMS)

Santa Maria, 1 de fevereiro de 2010

Dedico este trabalho as minhas amadas  
Jacqueline e Paula. Essa tese não teria o  
mesmo valor se vocês não estivessem ao meu  
lado. Obrigado por tudo. Amo muito vocês.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, nosso Pai eterno, fiel e cuidadoso, que me deu o dom da vida, o amor pela Medicina Veterinária e guiou meus caminhos até aqui;

Ao meu orientador, prof. Claudio Barros, inicialmente por ter me aceito como orientado e por ter me dado a oportunidade e a honra de fazer meu doutorado em uma escola de tamanha tradição em formar bons patologistas veterinários. Agradeço também pelos muitos ensinamentos, orientação, paciência, disponibilidade, confiança e apoio, que muito colaborou com a minha formação de patologista;

Aos professores Dominguita Graça, Glaucia Kommers, Luis Francisco e Rafael Figuera, pelos muitos ensinamentos, confiança, paciência, sugestões e apoio, que contribuíram fundamentalmente com minha formação profissional;

À minha esposa Jacqueline e minha filha Paula por toda a paciência, carinho, companheirismo, confiança, incentivo, compreensão e por tudo que representam em minha vida;

À toda minha família em Pernambuco e Minas Gerais, que mesmo longe, torcem pelo meu sucesso;

Ao professor Ricardo Lemos da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) e sua equipe, pela concessão de parte do material utilizado na primeira parte dessa tese e pelos trabalhos de pesquisa em colaboração realizados com nossa equipe do LPV-UFSM, incluindo a intoxicação experimental por amprólio em ovinos;

Ao CNPq, pela concessão de bolsa de Doutorado;

Aos professores Eduardo Gimeno e Claudio Barbeito da Facultad de Ciencias Veterinarias da Universidade Nacional de La Plata (UNLP), na Argentina, e ao convênio PROSUL/CNPq, que permitiram a minha ida a La Plata, para realização de treinamentos em imuno-histoquímica e lectino-histoquímica e trabalhos de pesquisa;

Aos colegas de Pós-Graduação do LPV-UFSM pelo agradável, prazeroso e divertido convívio durante esses três anos;

À Universidade Federal de Goiás (UFG), por ter me liberado durante esses três anos;

E a todos aqueles não citados que direta ou indiretamente contribuíram para a realização e conclusão desta importante etapa de minha vida, meus sinceros agradecimentos.

## **RESUMO**

Tese de Doutorado  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária  
Universidade Federal de Santa Maria

### **POLIOENCEFALOMALACIA EM RUMINANTES**

AUTOR: FABIANO JOSÉ FERREIRA DE SANT'ANA

ORIENTADOR: CLAUDIO S. L. BARROS

Data e local da defesa: Santa Maria, 1 de fevereiro de 2010.

Na primeira parte dessa tese, foram estudados a epidemiologia, os sinais clínicos e a distribuição das lesões no encéfalo de 31 casos de polioencefalomalacia (PEM) em bovinos do Estado do Rio Grande do Sul (13 casos) e da Região Centro-Oeste do Brasil (18 casos). As taxas de morbidade (0.04%-6.66 %), mortalidade (0.04%-6.66 %) e letalidade (50%-100%) foram semelhantes em ambas as regiões estudadas. Os casos ocorreram principalmente em bovinos criados de forma extensiva em pastagem. Na Região Sul a doença afetou principalmente bovinos jovens, enquanto que principalmente bovinos mais velhos foram afetados no Centro-Oeste. Os sinais clínicos mais freqüentemente observados incluíram cegueira, incoordenação, andar em círculos, opistótono, decúbito e movimentos de pedalagem. A evolução do quadro clínico variou de 12 horas a 8 dias. Em 11 encéfalos não foram observadas alterações macroscópicas; as principais alterações macroscópicas nos outros casos incluíam congestão com tumefação e achatamento das circunvoluções, amolecimento e amarelamento do córtex telencefálico, focos de hemorragia no tronco encefálico, cerebelo e telencefalo e herniação cerebelar. As principais alterações histológicas ocorreram no córtex dos lobos telencefálicos occipital, parietal e frontal; no entanto, lesões menos acentuadas e menos freqüentemente observadas ocorreram no hipocampo, núcleos da base, tálamo, mesencéfalo e cerebelo. O tipo de lesão microscópica cortical era consistente em todos os casos e incluía necrose neuronal laminar segmentar, espongirose, tumefação do núcleo das células endoteliais, astrócitos Alzheimer do tipo II e infiltração por células *gitter*. Em 20% dos casos havia um leve infiltrado celular linfo-histiocitário e em 13% dos casos havia leve infiltrado de neutrófilos e eosinófilos. Adicionalmente, lesões necro-hemorrágicas leves ou moderadas foram observadas em 49% dos casos nos núcleos da base, em 39% dos casos no tronco encefálico e em 26% dos casos no tálamo. Na substância cinzenta dos telencéfalos frontal, parietal e occipital, as camadas granular externa e interna foram as mais afetadas tanto por neurônios necróticos quanto por edema. Tanto os giros quanto os sulcos foram afetados

igualmente. Na segunda parte da tese, foi estabelecido um modelo experimental para o estudo da etiologia, patologia e patogênese da polioencefalomalacia em ruminantes. A condição foi induzida em cinco ovinos pela administração oral de amprólio nas doses diárias de 500 e 1.000 mg/Kg de peso vivo, respectivamente por 28-59 dias e 13-39 dias. O curso clínico foi de 3-7 dias. Os sinais clínicos incluíam depressão, incoordenação, midríase, bruxismo, cegueira e decúbito com opistótono e movimentos de pedalagem. Salivação excessiva e posição de cavalete foi observada em um ovino e mioclonias em um outro. Os principais achados de necropsia restringiam-se ao sistema nervoso central e incluíam tumefação do encéfalo com achatamento dos giros telencefálicos e hemorragias nos lobos parietal e occipital do telencéfalo. Histologicamente, havia necrose segmentar laminar de neurônios associada a edema, tumefação de células endoteliais, hemorragias e infiltração por macrófagos espumosos (células *gitter*). Essas alterações eram mais marcadas nos lobos frontal, parietal e occipital do telencéfalo e havia uma demarcação abrupta entre as lesões e o neurópilo normal adjacente. Adicionalmente, lesões semelhantes, mas menos acentuadas, eram observadas no mesencéfalo, tálamo e hipocampo. Levando em consideração a reproducibilidade regular dos aspectos da polioencefalomalacia em ovinos pela administração de amprólio, esse modelo pode ser útil para o estudo da doença.

Palavras-chave: Doenças de ruminantes; polioencefalomalacia; neuropatologia; distribuição de lesões; amprólio

## **ABSTRACT**

PhD Thesis  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária  
Universidade Federal de Santa Maria

**POLIOENCEPHALOMALACIA IN RUMINANTS**  
AUTHOR: FABIANO JOSÉ FERREIRA DE SANT'ANA  
ADVISER: CLAUDIO S. L. DE BARROS  
Santa Maria, February 1, 2010

In the first portion of this thesis, epidemiology, clinical signs and distribution of lesions in the brain of thirty one cases of polioencephalomalacia (PEM) in cattle from the Southern (13 cases) and Midwestern (18 cases) Brazil were studied. Morbidity (0.04%-6.66 %), mortality (0.04%-6.66 %), and lethality (50%-100%) rates were similar in both regions studied. Cases occurred mainly in cattle raised at pasture; in the Southern the disease affected mainly young cattle while mainly older cattle were affected in the Midwest. Clinical signs more frequently observed included blindness, incoordination, circling, opisthotonus, recumbence and paddling movements. Clinical course varied from 12 hours to 8 days. In 11 cases no gross changes were observed in the brain. Main gross findings in the brain of remaining cases included congestion with swelling and flattening of gyri, softening and yellow discoloration of cerebral cortex, hemorrhagic foci in the brain stem, cerebellum and telencephalon, and cerebellar herniation. The main histopathological changes were in the cortex of occipital, parietal and frontal telencephalic lobes; however less prominent and less frequently found lesions occurred in the hippocampus, basal nuclei, thalamus, midbrain, and cerebellum. The type of microscopic cortical lesions was consistent in all cases and included segmentar laminar neuronal necrosis, spongiosis, swollen of vascular endothelial nuclei, Alzheimer type II astrocytes and infiltration of *gitter* cells. In 20% of the cases there was mild lymphohistiocytic cellular infiltrate and in 13% of the cases there was mild infiltrate by neutrophils and eosinophils. Additionally, mild to moderate necro-hemorrhagic lesions were observed in 49% of the cases in the basal nuclei, in 39% of the cases in brain stem and in 26% of the cases in the thalamus. In the cortical laminae of the occipital, parietal and frontal telencephalic lobes, most frequently affected cortical layers both by neuronal necrosis and edema were external and internal granular layers. Both gyri and sulci were equally affected. In the second portion of the thesis, one experimental model for the study of the etiology, pathology, and pathogenesis of polioencephalomalacia in ruminants was established. The condition was induced in five sheep by oral administration of amprolium at daily doses of 500



and 1,000 mg per Kg of live body weight respectively for 28-59 days and for 13-39 days. Clinical course varied from 3 to 7 days. Clinical signs included depression, incoordination, midriasis, grinding of the teeth, blindness, and laying down with opisthotonus and paddling movements. Drooling and a sawhorse stance were observed in one sheep and myoclonus in another one. Main gross lesions were restricted to the central nervous system and included swelling of the brain with flattening of telencephalic gyri, and hemorrhages in the parietal and occipital lobes of the telencephalon. Histologically, there was segmental laminar neuronal necrosis (red neurons) associated with edema, swelling of endothelial cells, hemorrhages and infiltration by foamy macrophages (*gitter* cells). These changes were more marked in the frontal, parietal and occipital telencephalic lobes and there was sharp demarcation between the lesions and the adjacent normal neuropile. Additionally, similar, but less marked lesions were seen in the mesencephalon, thalamus and hippocampus. Considering the consistent reproducible aspects of polioencephalomalacia in sheep using amprolium, this may be an useful model for the study of the disease.

**Key-words:** Diseases of ruminants; polioencephalomalacia; neuropathology; distribution of lesions; amprolium.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Causas de polioencefalomalacia em ruminantes.....	15
Tabela 2. Concentrações de enxofre em amostras de ração, capim e água obtidas em propriedades que tiveram surtos naturais de polioencefalomalacia em bovinos no Rio Grande do Sul no período de 2007-2009.....	56

## **ABREVIATURAS USADAS**

BoHV – Herpesvírus bovino

BoHV-5 – Herpesvírus bovino tipo 5

CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

LPV – Laboratório de Patologia Veterinária

PEM - Polioencefalomalacia

UFG – Universidade Federal de Goiás

UFMS – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

UFSM – Universidade Federal de Santa Maria

UNLP - Universidade Nacional de La Plata

## SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	5
RESUMO	6
ABSTRACT	8
LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE ABREVIATURAS	11
SUMÁRIO	12
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 Introdução e histórico da enfermidade	15
2.2 Etiologia e patogênese	17
2.2.1 Deficiência de tiamina	17
2.2.2 Intoxicação por enxofre	20
2.2.3 Intoxicação por sal associada à privação de água	23
2.2.4 Intoxicação por chumbo	24
2.2.5 Meningoencefalite por herpesvírus bovino (BoHV)	26
2.3 Epidemiologia	26
2.4 Sinais clínicos	28
2.5 Achados de necropsia e de histopatologia	30
2.6 Diagnóstico	32
2.7 Tratamento e controle	35
3 TRABALHO 1	37
4 TRABALHO 2	49
5 PESQUISA DE ENXOFRE NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS AFETADOS POR POLIOENCEFALOMALACIA NO RIO GRANDE DO SUL (2007-2009)	56
6 DISCUSSÃO	58
7 CONCLUSÕES	60
REFERÊNCIAS	62

# 1 INTRODUÇÃO

Polioencefalomalacia (PEM) é um diagnóstico morfológico para necrose com amolecimento da substância cinzenta do encéfalo. No entanto, em 1956, no estado do Colorado, EUA, o termo PEM foi empregado para designar não somente uma lesão, mas uma doença específica de ruminantes, presumivelmente causada por deficiência de tiamina e caracterizada por necrose do córtex telencefálico (JENSEN et al., 1956), e tem sido usado desde então como sinônimo dessa condição em ruminantes.

A partir da década de 70 do século passado, muitos pesquisadores observaram que a PEM em ruminantes pode ter outras causas, incluindo intoxicação por enxofre (GOULD, 1998; LONERAGAN et al., 1998; GOULD, 2000; KUL et al., 2006), intoxicação por sal associada à privação de água (LINDLEY, 1977; TRUEMAN; CLAGUE, 1978; SCARRATT et al., 1985), intoxicação por chumbo (CHRISTIAN; TRYPHONAS, 1971; PRIESTER; HAYES, 1974; LEMOS et al., 2004; TRAVERSO et al., 2004; KRAMETTER-FROETSCHER et al., 2007), administração de determinados anti-helmínticos, como levamisole e tiabendazole (LINKLATER et al., 1977), administração de análogos da tiamina, como o amprólio (LOEW; DUNLOP, 1972; MARKSON et al., 1974; MORGAN, 1974), ingestão de cadáveres (PURISCO, 1982), ingestão de melão – provavelmente associada à intoxicação por enxofre – (MELLA et al., 1976), mudança brusca de pastos ruins para outros de ótima qualidade (MORO et al., 1994), ingestão de plantas ricas em tiaminases (PRITCHARD; EGGLESTON, 1978; RAMOS et al., 2005), forma aguda da intoxicação por *Phalaris* spp. (ANDERTON et al., 1994) e infecção por BoHV (CARRILLO et al., 1983a,b). Em algumas dessas situações, a participação da tiamina na patogênese da PEM foi questionada, uma vez que não havia alterações nas concentrações sanguíneas dessa substância.

No Brasil, a PEM tem sido descrita em bovinos, ovinos, bubalinos e caprinos (COLODEL et al., 1998, NASCIMENTO et al., 2003; LEMOS, 2005, LIMA et al., 2005; LEMOS; RIET-CORREA, 2007; GUIMARÃES et al., 2008), porém na grande maioria dos casos, a etiologia da enfermidade não foi determinada. Diante dos poucos estudos realizados no Brasil caracterizando principalmente os aspectos etiológicos e epidemiológicos da PEM, tornou-se necessário a realização do presente estudo, que contém duas partes: a primeira inclui um estudo retrospectivo de casos de PEM diagnosticados em bovinos na região Centro-Oeste do Brasil e no estado do Rio Grande do Sul; foi feita a caracterização epidemiológica,

clínica e patológica da enfermidade nessas regiões (SANT'ANA, F.J.F. et al. Polioencefalomalacia em bovinos: epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões no encéfalo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 7, p. 487-497, 2009); a segunda parte consiste da reprodução experimental de PEM em ovinos pela administração oral de amprólio (SANT'ANA, F.J.F. et al. Polioencefalomalacia experimental induzida por amprólio em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 9, p. 747-752, 2009), que teve como objetivo avaliar a viabilidade desse modelo experimental da doença em ovinos e comparar os aspectos clinicopatológicos dessa intoxicação com os observados nos casos naturais de PEM em bovinos.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Introdução e histórico da enfermidade

Polioencefalomalacia (PEM) é um termo descritivo que designa o diagnóstico morfológico para necrose com amolecimento (*malacia*) da substância cinzenta (*pólio*) do encéfalo. A denominação necrose cerebrocortical é usada para designar a mesma condição na Europa (MARKSON et al., 1972; EDWIN et al., 1979; JEFFREY et al., 1994). O uso do termo “polioencefalomalacia” tem gerado alguma controvérsia. Em 1956, no estado do Colorado, EUA, ele foi empregado para designar não somente uma lesão, mas uma doença específica de ruminantes, presumivelmente causada por deficiência de tiamina e caracterizada por necrose do córtex telencefálico (JENSEN et al., 1956). Desde então, o termo polioencefalomalacia tem sido usado como sinônimo dessa condição em ruminantes. No entanto, sabe-se hoje que nem todos os casos de polioencefalomalacia em ruminantes estão associados a distúrbios da tiamina e várias outras etiologias também são implicadas na patogênese dessa lesão (Tabela 1). No Brasil, o termo polioencefalomalacia tem sido empregado para definir doenças específicas sem que, na maioria dos casos, a etiologia tenha sido investigada, e não há certeza de que se trate da mesma doença ou de várias doenças com a mesma lesão (BARROS et al., 2006; LEMOS; RIET-CORREA, 2007).

**Tabela 1 - Causas de polioencefalomalacia em ruminantes**

Causa	Referência (s)
Deficiência de tiamina	JENSEN et al., 1956; RADOSTITS et al., 2007
Intoxicação por enxofre	OLKOWSKI, 1997; LONERAGAN et al., 1998; GOULD, 2000; TRAVERSO et al., 2001; KUL et al., 2006
Intoxicação por chumbo	CHRISTIAN; TRYPHONAS, 1971; PRIESTER; HAYES, 1974; LEMOS et al., 2004; TRAVERSO et al., 2004; KRAMETTER-FROETSCHER et al., 2007
Intoxicação por sal (privação de água)	LINDLEY, 1977; TRUEMAN; CLAGUE, 1978; SCARRATT et al., 1985; LEMOS et al., 1997
Meningoencefalite por BoHV-5	CARRILLO et al., 1983; RIET-CORREA et al., 1989; WEIBLEN et al., 1989
Intoxicação superaguda por <i>Phalaris</i> spp.	ANDERTON et al., 1994
Ingestão de melão (provavelmente associada a excesso de enxofre)	MELLA et al., 1976
Mudanças bruscas na alimentação de pasto ruim para excelente	MORO et al., 1994
Administração de levamisole e tiabendazole	LINKLATER et al., 1977
Administração de amprólio	LOEW; DUNLOP, 1972; MARKSON et al., 1974; MORGAN, 1974
Ingestão de plantas ricas em tiaminases	PRITCHARD; EGGLESTON, 1978; RAMOS et al., 2005
Ingestão de cadáveres (induzindo deficiência de tiamina)	PURISCO, 1982

PEM é descrita como uma doença nervosa e não-infecciosa que afeta bovinos (BARROS et al., 2006; RADOSTITS et al., 2007), ovinos (LIMA et al., 2005; RADOSTITS et al., 2007), caprinos (COLODEL et al., 1998; LIMA et al., 2005; RADOSTITIS et al., 2007)



e bubalinos (GUIMARÃES et al., 2008). Apresenta distribuição mundial e é responsável por perdas econômicas substanciais em vários países. Durante muito tempo a PEM foi considerada como causada por deficiência de tiamina (vitamina B1), que poderia ocorrer associada a determinadas condições alimentares, como altas quantidades de grãos ou forragem inadequada (HAVEN et al., 1983; RADOSTITS et al., 2007) e transferência de lotes de pastagens pobres para pastos jovens e tenros (JENSEN et al., 1956). Embora essa patogênese possa ainda ser válida em algumas dessas situações, a participação da tiamina na patogênese da PEM foi questionada, uma vez que não havia alterações nas concentrações dessa substância no fluido ruminal, nos tecidos ou no sangue de bovinos e ovinos afetados pela doença (LOEW, 1975; MELLA et al., 1976; SAGER et al., 1990; GOULD et al., 1991; ROUSSEAU et al., 1991). Um exemplo disso foi observado na indução de deficiência severa de tiamina em ovinos que não desenvolveram PEM (MUELLER; ASPLUND, 1981). Além disso, a deficiência de tiamina, quando ocorre, não é específica de PEM, pois as atividades da transcetolase eritrocitária (dependente de tiamina) e tiaminases gastrintestinais podem estar alteradas em outras condições de ruminantes (LOEW, 1975; LINKLATER et al., 1977).

Atualmente acredita-se que muitos dos casos de *blind staggers* descritos anteriormente como intoxicação por selênio, são na realidade casos de PEM associados a excesso de enxofre (O'TOOLE et al., 1996; GOULD, 1998). Entre 1956 e os dias de hoje, muitos pesquisadores observaram que a PEM em ruminantes pode ter várias causas, incluindo intoxicação por enxofre (GOULD, 1998; LONERAGAN et al., 1998; GOULD, 2000; KUL et al., 2006), intoxicação por sal associada à privação de água (LINDLEY, 1977; TRUEMAN; CLAGUE, 1978; SCARRATT et al., 1985), intoxicação por chumbo (CHRISTIAN; TRYPHONAS, 1971, PRIESTER; HAYES, 1974; LEMOS et al., 2004; TRAVERSO et al., 2004; KRAMETTER-FROETSCHER et al., 2007), administração de determinados anti-helmínticos, como levamisole e tiabendazole (LINKLATER et al., 1977), administração de análogos competitivos da tiamina, como o amprólio (LOEW; DUNLOP, 1972; MARKSON et al., 1974; MORGAN, 1974), ingestão de cadáveres (PURISCO, 1982), ingestão de melão - provavelmente associada à intoxicação por enxofre (MELLA et al., 1976), mudança brusca de pastos ruins para outros de ótima qualidade (MORO et al., 1994), ingestão de plantas ricas em tiaminases (PRITCHARD; EGGLESTON, 1978; RAMOS et al., 2005), forma aguda da intoxicação por *Phalaris* spp. (ANDERTON et al., 1994) e infecção por herpesvírus bovino (CARRILLO et al., 1983a,b). É relatado que intoxicações por cianeto ou por ácido

monofluoracético (ou por plantas que incluam essas substâncias) também podem causar necrose laminar do córtex cerebral (LEMOS; RIET-CORREA, 2007).

## **2.2 Etiologia e patogênese**

### **2.2.1 Deficiência de tiamina**

A tiamina é um composto importante para várias vias metabólicas e sua deficiência resulta em alterações no metabolismo dos carboidratos (RADOSTITS et al., 2007). A deficiência de tiamina interfere no metabolismo da glicose no sistema nervoso central (SNC), alterando a função dos sistemas enzimáticos intracelulares dependentes de pirofosfato de tiamina. A maioria do ATP é gerada por glicólise pela via pentose fosfato e a transcetolase, uma enzima encontrada em células gliais e eritrócitos, limita essa via. Como a tiamina atua como cofator para essa enzima, sua carência resulta em comprometimento da glicólise e da produção de ATP. Uma vez que o cérebro é dependente de glicose, a transcetolase das células gliais desenvolve papel importante no metabolismo encefálico. A tiamina atua também como cofatora para várias enzimas do Ciclo de Krebs (CEBRA, C.; CEBRA, M., 2004). A conversão de piruvato e lactato em acetato e do alfa-cetogluturato em succinato também são bloqueadas pela ausência de pirofosfato de tiamina (KANEKO et al., 1997). Adicionalmente, com essa redução da síntese de ATP, ocorre diminuição da eficiência da bomba de sódio e potássio, resultando em retenção de sódio, aumento da pressão osmótica no interior da célula e conseqüentemente alteração no volume celular devido à maior atração de água. Esses distúrbios são responsáveis pelas alterações morfológicas iniciais observadas no SNC acometido por PEM. Essas lesões geralmente ocorrem quando as concentrações de transcetolase eritrocitária reduzem cerca de 50% no cérebro e as concentrações de tiamina no cérebro estão abaixo de 20% do normal (DREYFUS, 1965).

Ruminantes adultos sintetizam quantidades suficientes dessa vitamina (GOONERATNE et al., 1989b). A deficiência de tiamina primária afeta principalmente ruminantes jovens, que não são capazes de sintetizar a vitamina e ingerem baixas quantidades desse elemento na dieta; a deficiência secundária ocorre pela produção de substâncias que inativam a tiamina ou competem com ela no rúmen ou no intestino (FERREIRA et al., 1986; RADOSTITS et al., 2007). Dietas ricas em carboidratos e pobres em fibra e mudanças bruscas na alimentação, principalmente na transferência de pastos pobres para pastagem de boa qualidade (JENSEN et al., 1956, MORO et al., 1994) favorecem a ocorrência da PEM. Dietas ricas em carboidratos

são facilmente fermentáveis reduzindo o pH ruminal, levando a acidose láctica, o que inibe o desenvolvimento dos microorganismos produtores de tiamina e favorece a multiplicação de algumas bactérias que sintetizam tiaminase, como *Clostridium sporogenes* e *Bacillus thiaminolyticus* (MORGAN; LAWSON, 1974; SHREEVE; EDWIN, 1974; HAVEN et al., 1983). As reservas hepáticas de tiamina são exauridas, desencadeando deficiência sistêmica, inclusive no tecido nervoso, ocasionando as manifestações clínicas características da doença. Atividades altas (em comparação com controles) de tiaminases dos tipo-1 e 2 foram encontradas no líquido ruminal de ovinos e bovinos e apontadas como causa de PEM (EDWIN et al., 1968). Bovinos e ovinos afetados por PEM apresentavam também baixas concentrações de tiamina no encéfalo e fígado (EDWIN; JACKMAN, 1973). Análogos da tiamina com atividade biológica comprometida podem ser produzidos no rúmen por tiaminase tipo-1 (EDWIN; JACKMAN, 1981/1982). Apesar de não ter sido demonstrado aumento do número de bactérias totais no rúmen de bovinos afetados por PEM, houve marcada diferença qualitativa entre as populações de bactérias em relação a bovinos normais (HAVEN et al., 1983), resultando em maior quantidade de microorganismos degradantes de tiamina. Microorganismos produtores de tiaminases foram demonstrados em amostras de feno, silagem, concentrados e forrageiras (EDWIN; JACKMAN, 1973). Assim, a proliferação desses agentes no rúmen pode ocorrer após a ingestão desses compostos ou condições como deficiência de cobalto, administração de anti-helmínticos ou antibióticos orais (RIET-CORREA et al., 2007) e acidose ruminal (LEMOS, 2005).

Tiaminases também ocorrem em plantas, como *Amaranthus blitoides*, *Malva parviflora*, *Pteridium aquilinum*, *Marsilea drummondii*, *Cheilanthes sieberi* e *Equisetum arvense* (PRITCHARD; EGGLESTON, 1978; MEYER, 1989; RAMOS et al., 2005). Entretanto, essas plantas somente ocasionalmente ou mesmo raramente estão envolvidas em surtos espontâneos de PEM (RADOSTITS et al., 2007) e experimentos com *P. aquilinum* em eqüinos não resultaram em doença clínica (GAVA 1988, comunicação pessoal). Dessas, apenas a *M. drummondii* parece ser uma causa importante de PEM na Austrália (PRITCHARD; EGGLESTON, 1978).

Outras condições que podem conduzir à deficiência de tiamina incluem a administração de substâncias antimetabólicas da vitamina B<sub>1</sub>, como piritiamina, oxtiamina e amprólio (LOEW; DUNLOP, 1972; MARKSON et al., 1972; MORGAN, 1974; SANT'ANA et al., 2009b) e o uso de alguns anti-helmínticos, como levamisole e tiabendazole (LINKLATER et al., 1977). A doença já foi produzida experimentalmente em ovinos de uma semana de idade pela administração de leite isento de tiamina, com alguns animais sendo tratados

adicionalmente com amprólio (THORNBUR et al., 1979). Ruminantes criados intensivamente apresentam maiores fatores de risco para desenvolvimento de PEM, pois apresentam alterações no metabolismo ruminal em função de dietas altamente energéticas e acidificadoras do rúmen ou por serem tratados frequentemente com antibióticos orais. Surto de PEM atribuídos à deficiência de tiamina podem ocorrer em ovinos e caprinos manejados intensivamente e alimentados por garrafa com substitutos de leite (CEBRA, C.; CEBRA, M., 2004). Um surto de PEM é descrito em caprinos que consumiram “uva-do-Japão” (*Hovenia dulcis*) durante cinco dias (COLODEL et al., 1998). O fruto de *H. dulcis* contém altas concentrações de sacarídeos (HUSSAIN et al., 1990), e é possível que esses caprinos tenham desenvolvido acidose ruminal e consequente deficiência de tiamina.

O motivo que por muito tempo sustentou a afirmação de que a deficiência de tiamina era a única causa de PEM, foi a constante recuperação de bovinos afetados pela doença após o tratamento com a vitamina (BARROS et al., 2006; RADOSTITS et al., 2007). Entretanto, tentativas de reprodução experimental da doença pela indução de deficiência de tiamina nem sempre tem sucesso (RADOSTITS et al., 2007), baixas concentrações de tiamina não são detectadas em todos os casos naturais de PEM em ruminantes (McALLISTER et al., 1997) e tiaminases ocorrem nas fezes de ovinos clinicamente normais (LINKLATER et al., 1977), demonstrando que a deficiência de tiamina não pode ser confirmada por esse método.

### 2.2.2 Intoxicação por enxofre

Nas últimas décadas, numerosos pesquisadores tem demonstrado que a intoxicação por enxofre é uma causa extremamente importante e comum de PEM em ruminantes (RAISBECK, 1982; HARRIES, 1987; GOONERATNE et al., 1989a; GOULD et al., 1991; ROUSSEAU et al., 1991; McALLISTER et al., 1992; HAMLEM et al., 1993; JEFFREY et al., 1994; BULGIN et al., 1996; LOW et al., 1996; HILL; EBBETT, 1997; McALLISTER et al., 1997; OLKOWSKY, 1997; GOULD, 1998; LONERAGAN et al., 1998; GOULD, 2000; GOULD et al., 2002; NILES et al., 2000; TRAVERSO et al., 2001; NILES et al., 2002; HAYDOCK, 2003; KUL et al., 2006; MCKENZIE et al., 2009). Esse tipo de PEM associada à intoxicação por enxofre parece ser uma forma epidemiologicamente distinta da doença (GOULD, 1998). Surto de PEM ocorrem associados a altos níveis de enxofre (sulfatos, sulfitos ou sulfetos) na alimentação (MELLA et al., 1976; RAISBECK, 1982; JEFFREY et al., 1994; BULGIN et al., 1996; LOW et al., 1996; HILL; EBBETT, 1997; NILES et al., 2000; TRAVERSO et al., 2001) ou na água (HARRIES, 1987; GOONERATNE et al., 1989b;

HAMLEM et al., 1993; GOULD, 2000) ingerida pelos ruminantes e no conteúdo ruminal desses animais (McALLISTER et al., 1997). As fontes desses compostos são variáveis e incluem aditivos no concentrado, como o gesso (sulfato de cálcio) ou acidificadores de urina (sais de sulfato inorgânico ou sulfato de amônia), pastagens (por absorção do elemento no solo ou por contaminação com subprodutos industriais ou animais e fertilizantes), fontes de água com altos teores de enxofre e, mais raramente, erros na formulação de rações (JEFFREY et al., 1994; McALLISTER et al., 1997; OLKOWSKY, 1997; RADOSTITS et al., 2007). A água é considerada o principal componente envolvido na veiculação de altas concentrações de enxofre na dieta de bovinos (OLKOWSKY, 1997).

Ingestão excessiva de enxofre associada à baixa ingestão de microelementos, como zinco, molibdênio e principalmente cobre, tem sido implicada na patogênese da PEM (GOONERATNE et al., 1989b). Os sulfatos ingeridos são reduzidos a sulfetos pela microbiota ruminal e se ligam a cátions divalentes (minerais). Os sulfetos parecem ser a forma tóxica (GOULD, 1998) e são encontrados em maior quantidade na camada gasosa do rúmen em comparação com o fluido ruminal (GOULD et al., 1997). Tem sido observados casos de PEM associados à deficiência de cobre em regiões onde as águas são ricas em sulfatos (GOULD, 1998), mas essa forma da doença foi reproduzida experimentalmente, com a comprovação de que a capacidade da dieta em induzir PEM não era devida à deficiência de cobre (SAGER et al., 1990). Em outro estudo, intoxicação crônica por cobre foi associada à PEM (SARGISON et al., 1994). Nesse caso, a toxicidade por cobre pode ter causado diminuição da função hepática resultando em concentrações plasmáticas aumentadas de enxofre contendo aminoácidos que teriam predisposto a PEM relacionada ao enxofre (SARGISON et al., 1994).

A microbiota ruminal adaptada a dietas ricas em sulfatos produz grandes concentrações de sulfeto de hidrogênio, parte das quais é destoxificada pela produção bacteriana de aminoácidos sulfurados; outra parte é absorvida pelas mucosas ruminal e intestinal ou ainda pode ser eructada (CEBRA, C.; CEBRA, M., 2004; RADOSTITS et al., 2007). Ânions tóxicos derivados desse gás inibem a enzima citocromo-oxidase, baixando a produção de ATP (McALLISTER et al., 1997). Esse mecanismo interrompe a respiração celular e causa hipóxia, com consequente necrose neuronal (McALLISTER et al., 1992, RADOSTITS et al., 2007). Como o SNC depende de níveis altos e ininterruptos de energia, esse é o principal sistema afetado. Contudo, outros mecanismos de ação também podem estar envolvidos. O enxofre pode se ligar à hemoglobina formando a sulfemoglobina, que, por sua vez, reduz a capacidade de condução de oxigênio no sangue (BULGIN et al., 1996). Adicionalmente, o

H<sub>2</sub>S endógeno pode funcionar como neuromodulador no cérebro (ABE; KIMURA, 1996), ou ainda, exercer um efeito paralítico direto no corpo carotídeo inibindo a respiração (DURAND; KOMISARCZUK, 1988). Embora se reconheçam todas essas ações, os efeitos tóxicos dos sulfetos não são totalmente conhecidos (CEBRA, C.; CEBRA, M., 2004). Sulfitos são responsáveis pela clivagem da tiamina. Entretanto, essa redução da tiamina não foi comprovada em ovinos alimentados com uma dieta semissintética livre de tiamina e rica em sulfatos (OLIVEIRA et al., 1996).

A produção de concentrações patológicas de H<sub>2</sub>S no rúmen depende fundamentalmente de alguns fatores. Os principais são a quantidade de enxofre fornecida ao animal e a capacidade de as bactérias ruminais em degradá-lo. A concentração recomendada de enxofre dietético para ruminantes é de, no máximo, 3% e o limite tolerável é de 4 % (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1996). A avaliação do fornecimento de enxofre total em termos de porcentagem do mineral em matéria seca é recomendada para avaliar o potencial de produção ruminal patológica de H<sub>2</sub>S. É necessário saber a quantidade de enxofre em matéria seca contido em cada fonte alimentar (volumoso, ração, água, etc.) para se chegar ao valor final. Em algumas regiões dos Estados Unidos, sulfatos na água podem representar uma quantidade significativa do enxofre consumido pelos animais e alcançar até 2.000 ppm (GOULD, 1998; GOULD et al., 2002). Quando as temperaturas e as concentrações de enxofre na água são elevadas, o risco de desenvolvimento de PEM aumenta consideravelmente (McALLISTER et al., 1997; GOULD, 1998). As bactérias que degradam sulfatos pode ser dissimilatórias e assimilatórias. As dissimilatórias usam enxofre como um receptor de elétrons e produzem sulfetos como um produto metabólico final necessário, enquanto as assimilatórias reduzem enxofre, mas o utilizam para sintetizar aminoácidos contendo enxofre. Produção e acúmulo excessivos de sulfeto no rúmen poderiam ser causados pela predominância de bactérias dissimilatórias ou por capacidade assimilatória insuficiente (GOULD, 2000). Duas bactérias dissimilatórias isoladas do fluido ruminal de ovinos e bovinos, *Desulfovibrio* spp. e *Desulfotomaculum* spp., são os principais microorganismos produtores de sulfeto no rúmen (CUMMINGS et al., 1995). A produção de H<sub>2</sub>S ruminal também pode ser afetada pelo tipo de carboidrato ingerido e pelo pH do fluido ruminal. O tipo e a disponibilidade do carboidrato podem afetar o número e o metabolismo de bactérias redutoras de sulfato (GOULD, 2000). Condições ácidas favorecem uma concentração aumentada de H<sub>2</sub>S na camada gasosa do rúmen e a inalação desse gás eructado poderia servir como rota de absorção sistêmica de sulfetos. Embora não se conheça a principal via de absorção de sulfetos, há evidências que o sistema respiratório sirva de via de entrada primária (GOULD, 1998). Os surtos de PEM

associados ao consumo de melão por bovinos (MELLA et al., 1976) podem ter sido causados por intoxicação por enxofre, uma vez que o melão pode ser rico em enxofre (GOULD, 1998).

No Brasil, há dois surtos de PEM descritos em ovinos (LIMA et al., 2005) e bovinos (TRAVERSO et al., 2001) ingerindo ração com níveis altos de enxofre. Em outros países, a doença tem sido também descrita em bovinos pastejando plantas acumuladoras de enxofre, como *Kochia scoparia* (DICKIE; BERRYMAN, 1979), *Chenopodium* spp. (GOULD, 2000) brotos de cevada (*Hordeum vulgare*) (KUL et al., 2006), *Descurainia pinnata* (ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY, 2005-2006), *Brassica oleracea* (HILL; EBBETT, 1997), *B. rapa* e *B. napus* (GOULD, 2000). Nessa última, as maiores concentrações de enxofre são encontradas nas inflorescências e nas cápsulas das sementes (BOOTH et al., 1991). Recentemente, dois surtos de PEM associados à intoxicação por enxofre foram relatados em bovinos na Austrália que tiveram acesso a várias plantas crucíferas (Brassicaceae) acumuladoras de enxofre, como *Sisymbrium irio*, *Capsella bursapastoris* e *Raphanus raphanistrum* (McKENZIE et al., 2009). Essas plantas produzem glucosinolatos com dois átomos de enxofre por molécula. Nenhuma dessas plantas acumuladoras de enxofre (citadas acima) tem sido associada a surtos de PEM em ruminantes no Brasil. Algumas forragens que são ricas em proteínas, como a alfafa, podem servir de fonte de enxofre para os animais, provavelmente em função do conteúdo de aminoácidos sulfurados da proteína. Tem sido mostrado que bactérias ruminais incubadas *in vitro* podem produzir H<sub>2</sub>S após adição de cisteína e metionina (CUMMINGS et al., 1995). Adicionalmente, PEM tem sido reproduzida em bezerros alimentados com dieta a base de glúten de milho com concentrações de enxofre variando de 3.860 a 7.010ppm (NILES et al., 2002).

### 2.2.3 Intoxicação por sal associada à privação de água

Intoxicação por sal direta resulta da ingestão direta e imediata de altas quantidades de cloreto de sódio enquanto a intoxicação indireta (mais comum) resulta da ingestão contínua de sal associada à privação de água (MAXIE; YOUSSEF, 2007). Intoxicação direta ocorre especialmente em bovinos sedentos que tem acesso a uma fonte de água salobra ou à suplementação com cloreto de sódio após período de restrição desse mineral (MAXIE; YOUSSEF, 2007), mas essa condição é pouco comum (SUMMERS et al., 1995). A intoxicação indireta é quase exclusivamente uma doença de suínos e raramente ocorre em ruminantes (TRUEMAN; CLAGUE, 1978, SUMMERS et al., 1995, MAXIE; YOUSSEF,

2007). Em situações de temperatura ambiente elevada, os animais podem ingerir água avidamente após período de restrição hídrica, o que pode agravar o quadro de intoxicação indireta por sal (LINDLEY, 1977). A patogênese da intoxicação não foi totalmente esclarecida, porém o influxo de eosinófilos para o espaço perivascular está relacionado com o aumento de íons sódio (SUMMERS et al., 1995). Sabe-se que o sódio é o principal determinante da osmolaridade extracelular e passa lentamente pela barreira hematoencefálica. Quando as concentrações de sódio sanguíneo estão elevadas no sangue (145-185mE/L), o encéfalo também possui altas concentrações desse mineral, o que inibe a glicólise anaeróbica. Com o acesso a água, as concentrações de sódio no sangue voltam ao normal, mas no encéfalo permanecem altas. Como a glicólise anaeróbica está comprometida, não há transporte ativo para fora do sistema nervoso. Assim, cria-se um gradiente osmótico e a água passa do sangue para o encéfalo, levando ao edema cerebral (CEBRA, C.; CEBRA, M., 2004). Na reidratação rápida, o fluxo de água para os eritrócitos frequentemente causa hemólise intravascular, que pode deixar o soro e a urina vermelhos ou marrons (CEBRA, C.; CEBRA, M., 2004).

A quantidade de sal tolerada na dieta depende fundamentalmente da quantidade de água fornecida e da quantidade de sal presente na água. Ruminantes podem tolerar pelo menos 13% de sal com acesso livre a água limpa, mas recomenda-se não ultrapassar 4% na alimentação e 0,3% na água. Concentrações inferiores podem ser tóxicas se há restrição de água ou se a água contém 7.000ppm (0,7%) de sal ou mais. Toxicose crônica pode ser causada por quantidades inferiores de sal que as doses tóxicas agudas de aproximadamente 2,2mg/kg para bovinos e 6mg/kg para ovinos (CEBRA, C.; CEBRA, M., 2004).

O efeito da restrição de água pode ser exacerbado pelo consumo de sal mineral ou suplementos protéico-energéticos. No Brasil, acredita-se que o uso frequente, por alguns pecuaristas, de suplementos protéico-energéticos contendo minerais (também conhecido como sal proteinado ou misturas múltiplas) pode estar envolvido no fornecimento inadequado e exagerado de sódio, especialmente para bovinos, e ter participação na patogênese de surtos de PEM (RIET-CORREA et al., 2007).

#### 2.2.4 Intoxicação por chumbo

A intoxicação por chumbo é descrita em várias espécies animais (PRIESTER; HAYES, 1974) e é uma importante causa de necrose da substância cinzenta encefálica em bovinos. Nessa espécie, a intoxicação ocorre pela ingestão acidental de produtos que contêm chumbo



ou pela ingestão de pastagens contaminadas (DRIEMEIER; BARROS, 2007). No Canadá, o chumbo é uma das causas tóxicas mais comuns de doenças neurológicas em ruminantes (HOFF et al., 1998). A doença foi descrita no Brasil, em bovinos, nos estados de Santa Catarina, Paraná (DRIEMEIER; BARROS, 2007), Rio Grande do Sul (TRAVERSO et al., 2004) e Mato Grosso do Sul (LEMOS et al., 2004). Casos de intoxicação por chumbo também foram descritos em eqüinos no estado de São Paulo (DRIEMEIER; BARROS, 2007). Animais que ingerem doses elevadas, moderadas e baixas de chumbo desenvolvem doença nervosa, digestiva e de nervos periféricos, respectivamente (RADOSTITS et al., 2007). Entre os animais domésticos, os bovinos são a espécie mais afetada e bezerros são mais suscetíveis em relação aos adultos (BLAKLEY, 1984). Isso se deve à maior curiosidade e menor seletividade nos hábitos alimentares dessa espécie (TRAVERSO et al., 2004; RADOSTITS et al., 2007). Casos de intoxicação são frequentemente associados à exposição de rebanhos a resíduos de baterias, tintas, lubrificantes, óleos de motor, fumaça de indústrias, herbicidas, inseticidas e pastagens contaminadas por lixo industrial (CEBRA, C.; CEBRA, M., 2004; LEMOS et al., 2004; TRAVERSO et al., 2004). A intoxicação pode ser aguda, subaguda (CHRISTIAN; TRYPHONAS, 1971) ou crônica (DONAWICK, 1966) e alguns autores relatam maior número de casos no verão, época em que há maior movimentação de maquinários agrícolas no campo, expondo o rebanho aos produtos contaminados (BLAKLEY, 1984; RADOSTITS et al., 2007).

As alterações nervosas são consequentes do edema devido ao depósito de chumbo no endotélio capilar, enquanto que lesões digestivas ocorrem pela ação cáustica dos sais de chumbo na mucosa. Alguns animais desenvolvem anemia normocítica normocrômica em intoxicações crônicas devido às reduções da vida do eritrócito e da síntese da porção heme da hemoglobina. Este mecanismo ocorre por aumento da protoporfirina, por meio da inibição da enzima hemessintetase, o que impossibilita a ligação do ferro com a protoporfirina (RADOSTITS et al., 2007). Em experimento realizado com bovinos foi demonstrado que a anemia se desenvolve tardiamente (após aproximadamente 100 dias de ingestão contínua de chumbo). Outros achados incluem aumento da fragilidade osmótica e aumento na concentração de porfirina sanguínea (CHRISTIAN; TRYPHONAS, 1971). O chumbo também pode causar desmielinização em nervos periféricos, embora ocorra infreqüentemente em ruminantes (CEBRA, C.; CEBRA, M., 2004).

A toxicidade do chumbo varia conforme a espécie e a composição química em que está veiculado. As formas metálicas e sulfíticas são pouco absorvidas, enquanto que os sais de acetato, fosfato, carbonato e hidróxidos são prontamente assimilados (CEBRA, C.; CEBRA,

M., 2004). Em bovinos as doses tóxicas variam de 600-800mg/kg para bovinos adultos e de 220-600mg/kg para bezerros e para caprinos são de 400mg/kg; doses diárias de 6-7mg/kg podem causar intoxicação crônica (RADOSTITS et al., 2007). Após a ingestão, somente uma fração do chumbo é absorvida no trato gastrointestinal; dessa parte, uma quantidade é excretada na bile, urina e no leite e outra é depositada nos rins, fígado e medula espinhal na intoxicação aguda, e ossos na intoxicação crônica (RADOSTITS et al., 2007). A maior parte do chumbo ingerido forma complexos insolúveis e é excretada nas fezes (CEBRA, C.; CEBRA, M., 2004).

Quase todo o chumbo absorvido é ligado irreversivelmente a proteínas de eritrócitos. Por isso, as concentrações do mineral são muito maiores no sangue total em comparação ao soro ou plasma. Quando os eritrócitos senis são removidos pelo baço, a maior parte do chumbo é depositada nos ossos sob a forma de sais trifosfatos e uma pequena quantidade é colocada em órgãos, como rim e fígado, como sais difosfatos. Abortos e malformações espinhais tem sido descritas em ovinos expostos ao chumbo, uma vez que o mineral atravessa a placenta e se deposita em tecidos fetais (CEBRA, C.; CEBRA, M., 2004).

### 2.2.5 Meningoencefalite por herpesvírus bovino (BoHV)

A meningoencefalite por BoHV é uma doença infecto-contagiosa, aguda ou subaguda, geralmente fatal e que afeta principalmente bovinos jovens submetidos a situações de estresse (RIET-CORREA et al., 1989; COLODEL et al., 2002; ELIAS et al., 2004; RIET-CORREA et al., 2006; RISSI et al., 2006). A maioria dos bovinos que desenvolvem doença neurológica morre em decorrência de meningoencefalite, porém alguns podem desenvolver infecção subclínica e, após recuperação, permanecerem portadores da infecção latente. A doença pode ocorrer na forma de surtos ou em casos isolados, com coeficientes de morbidade que podem variar de 0,05% a 5%; a letalidade é quase sempre de 100%. Os sinais clínicos e as lesões são semelhantes às observadas na PEM tradicional. Os achados de necropsia podem estar ausentes, mas normalmente se observa tumefação das porções rostrais do córtex telencefálico e achatamento das circunvoluções, com segmentos amarelados e amolecidos (malacia). Com a evolução da doença, essas áreas se tornam gelatinosas e acinzentadas, e em casos avançados ocorre o desaparecimento segmentar do córtex telencefálico frontal (lesão residual). Em muitos casos podem ser observados focos de malacia na substância cinzenta dos núcleos basais e do tálamo. Essas lesões tornam difíceis a separação dos casos de infecção por BoHV dos outros casos de PEM, mas infiltrado inflamatório intenso no exame histológico ajuda na

diferenciação. No entanto BoHV-5 e BoHV-1 tem sido isolados de casos onde não se observam lesões inflamatórias significativas (RISSI et al., 2008). Para complicar mais ainda a diferenciação entre essas doenças, uma teoria que une casos de polioencefalomalacia e infecção por BoHV-5 foi proposta (DAVID et al., 2007). Segundo ela, no Mato Grosso do Sul, surtos de meningoencefalite por BoHV-5 e PEM apresentam características epidemiológicas semelhantes, o que sugere, segundo os autores, que a meningoencefalite está associada à reativação de uma infecção latente por BoHV-5 em animais com PEM.

### 2.3 Epidemiologia

No Brasil, PEM foi descrita em bovinos no Rio Grande do Sul (SANTOS et al., 1983; RIET-CORREA et al., 1998; MOTTA et al., 1999; SANCHES et al., 2000; TRAVERSO et al., 2001; SCHILD et al., 2005; SANT'ANA et al., 2009a), Minas Gerais (FERREIRA et al., 1986; MORO et al., 1994), Pernambuco (VIEIRA et al., 2007), Mato Grosso do Sul, São Paulo (PURISCO, 1982; NAKAZATO et al., 2000; GONÇALVES et al., 2001; LEMOS, 2005; DAVID et al., 2007; SANT'ANA et al., 2009a), Paraíba, Pará (LEMOS; RIET-CORREA, 2007), Mato Grosso e Goiás (GRECCO et al., 2001; LEMOS, 2005; MIGUEL et al., 2005; SANT'ANA et al., 2009a). Em ovinos são relatados surtos da doença nos estados de Pernambuco (NASCIMENTO et al., 2003; VIEIRA et al., 2007) e Paraíba (LIMA et al., 2005) e no Distrito Federal (MOSCARDINI et al., 2003). Surtos de PEM em caprinos são descritos na Paraíba (LIMA et al., 2005) e no Rio Grande do Sul (COLODEL et al., 1998). Há uma descrição de PEM em bubalinos jovens no Estado do Mato Grosso do Sul (GUIMARÃES et al., 2008). No Brasil, não são conhecidos fatores epidemiológicos ou ambientais que expliquem a ocorrência da doença em determinadas regiões geográficas, como já foi determinado em outros estudos nos Estados Unidos (BULGIN et al., 1996; GOULD et al., 2002), na Nova Zelândia (HILL; EBBETT, 1997) e na Austrália (McKENZIE et al., 2009). PEM representa 0,1% e 4,4% de todos diagnósticos realizados em bovinos no Rio Grande do Sul (SANCHES et al., 2000) e no Mato Grosso do Sul (NOGUEIRA et al., 2008), respectivamente. Estima-se que aproximadamente 19% de todas as mortes em ovinos confinados sejam decorrentes de PEM (RADOSTITS et al., 2007).

A doença pode ocorrer na forma de surtos (MORO et al., 1994; NAKAZATO et al., 2000; KUL et al., 2006) ou como casos isolados (FERREIRA et al., 1986; LEMOS, 2005) e, na maioria das vezes, não apresenta sazonalidade (GABBEDY; RICHARDS, 1977, NAKAZATO et al., 2000; LEMOS, 2005; LIMA et al., 2005; VIEIRA et al., 2007;

SANT'ANA et al., 2009a). No entanto, são descritos surtos de PEM em Mato Grosso do Sul (PURISCO, 1982) especialmente no período de seca da região (junho a setembro), e a ocorrência dos casos é associada à ingestão de cadáveres e carência de pastagens. Na Turquia, 256 casos de PEM associada à ingestão de brotos de cevada, ricos em enxofre, foram observados em bovinos de corte e de leite nos meses de agosto, outubro e dezembro (KUL et al., 2006). Em 111 casos da doença descritos nos EUA (JENSEN et al., 1956), dois tipos de sazonalidade foram descritos: bovinos criados intensivamente, eram afetados no inverno (janeiro) e bovinos criados extensivamente eram afetados no verão (julho). No Uruguai, PEM geralmente afeta bovinos criados em pastos nativos ou cultivados na primavera (RIET-CORREA et al., 2007). Nesse mesmo país, surtos da doença associados à intoxicação por sal e privação de água ocorreram no outono em bovinos que ficaram dias sem acesso à água e, quando tiveram, beberam avidamente, morrendo em 1-2 dias (RIET-CORREA et al., 2007).

Os coeficientes de morbidade e mortalidade são de 0,04-14 % e de letalidade de 43-100% (LEMOS, 2005; RIET-CORREA et al., 2007; SANT'ANA et al., 2009a). Quando os animais são tratados no início da doença, a letalidade pode ser menor. Não há preferência por raça ou sexo (RADOSTITS et al., 2007; SANT'ANA et al., 2009a), embora ovinos da raça Merino pareçam ser mais resistentes que outras raças ovinas ao desenvolvimento da doença (MAXIE; YOUSSEF, 2007). Quando a PEM é associada à intoxicação por enxofre (DICKIE et al., 1979; HAMLEM et al., 1993; JEFFREY et al., 1994; HILL; EBBETT, 1997) ou por sal com privação de água (LINDLEY, 1977; TRUEMAN; CLAGUE, 1978), o índice de morbidade pode ser alto, demonstrando que a causa específica interfere na epidemiologia da doença.

Embora a literatura internacional mencione que casos de PEM ocorram principalmente em bovinos jovens confinados, especialmente na América do Norte, Reino Unido, Austrália e Nova Zelândia (JENSEN et al., 1956; HARRIES, 1987; GOONERATNE et al., 1989b; NILES et al., 2000; RADOSTITS et al., 2007), no Brasil e no Uruguai os casos frequentemente são descritos em bovinos adultos criados extensivamente (PURISCO, 1982; FERREIRA et al., 1986; MORO et al., 1994; MOTTA et al., 1999; NAKAZATO et al., 2000; GRECCO et al., 2001; MIGUEL et al., 2005; RIET-CORREA et al., 2007; VIEIRA et al., 2007; SANT'ANA et al., 2009a), indicando que algum fator ou fatores diferentes participam da patogênese da doença nesses locais. Em ovinos, surtos de PEM são descritos principalmente em animais criados de forma intensiva (LIMA et al., 2005; VIEIRA et al., 2007), mas também em criações de regime extensivo (LIMA et al., 2005).

## 2.4 Sinais clínicos

Os sinais clínicos observados na PEM são associados às lesões primárias do telencéfalo, e também, às secundárias no cerebelo e no tronco encefálico. Essas últimas ocorrem em função da compressão exercida pelos telencéfalos tumefeitos com edema (RIET-CORREA et al., 2002). Os principais sinais são cegueira de origem central, torneio, andar sem rumo, movimentos involuntários, pressão da cabeça contra obstáculos, depressão, incoordenação, tremores musculares, ataxia, bruxismo, sialorréia, opistótono, nistagmo, estrabismo, afastamento do rebanho, decúbito, convulsões, diminuição do tônus da língua e movimentos de pedalagem. Cegueira, que é associada à lesão no telencéfalo occipital, é um dos principais sinais descritos; em um estudo no Estado de São Paulo todos os bovinos afetados apresentaram esse sinal (GONÇALVES et al., 2001). No início da doença, os animais podem apresentar excitação e agressividade (RIET-CORREA et al., 2007). O curso clínico varia, em média, de dois a quatro dias (SANT'ANA et al., 2009a), porém são descritos quadros agudos de evolução de 12 horas (NAKAZATO et al., 2000; SANT'ANA et al., 2009a) ou crônicos de 22 dias em ovinos (VIEIRA et al., 2007) ou 25 dias em bovinos (GONÇALVES et al., 2001).

Na PEM associada à toxicose por enxofre, ocorrem duas formas clínicas: uma aguda caracterizada por cegueira, convulsões, opistótono, pressão da cabeça contra obstáculos, decúbito e, frequentemente, morte; uma outra forma subaguda é usualmente seguida de recuperação com déficits neurológicos leves. Em alguns casos, a forma subaguda pode progredir para uma forma mais grave com decúbito e convulsões (GOULD, 2000). Usualmente, os sinais clínicos ocorrem entre a terceira e oitava semana de exposição ao enxofre (GOONERATNE et al., 1989a; OLKOWSKI et al., 1992; HILL; EBBETT, 1997). Adicionalmente, outro achado clínico importante é o odor significativo de ovo em putrefação exalado pelos animais intoxicados, que também pode ser verificado na avaliação macroscópica do rúmen (BULGIN et al., 1996; RADOSTITIS et al., 2007). Isso ocorre em função da produção excessiva de H<sub>2</sub>S no rúmen (GOULD, 2000).

Bovinos intoxicados por sal desenvolvem sinais clínicos geralmente após período prolongado de jejum hídrico ou restrição de água, seguido de acesso a água sem restrições. Muitos animais podem ser afetados. Os sinais são semelhantes aos descritos para PEM causada por outras causas (SUMMERS et al., 1995), porém também podem apresentar vômito, atonia ruminal, diarreia e dor abdominal, com evolução clínica de aproximadamente um dia (CEBRA, C.; CEBRA, M., 2004). Os sinais digestivos são observados principalmente

na intoxicação direta por cloreto de sódio (MAXIE; YOUSSEF, 2007). O soro e a urina com tonalidade marrom ou vermelha são úteis na suspeita de intoxicação por sal (CEBRA, C.; CEBRA, M., 2004). Em bovinos intoxicados por sal associado à privação de água no Uruguai, o quadro clínico incluiu sinais nervosos, cegueira, depressão e enoftalmia (RIET-CORREA et al., 2007).

Os sinais clínicos de distúrbios nervosos em bovinos intoxicados por chumbo são semelhantes aos descritos na PEM por outras causas e a evolução é de aproximadamente 2-7 dias (LEMOS et al., 2004; TRAVERSO et al., 2004). Raramente, bovinos afetados podem sobreviver por mais tempo (LEMOS et al., 2004). Na forma aguda os bovinos podem apresentar morte súbita e normalmente não são observados sinais clínicos; a forma subaguda cursa com ataxia, fasciculações musculares, hiperestesia, depressão, cegueira central, salivação, pressão da cabeça contra objetos e andar sem rumo (SUMMERS et al., 1995; CEBRA, C.; CEBRA, M., 2004). Alguns animais apresentam torção, atonia ruminal, cólica e diarreia fétida. Bovinos intoxicados cronicamente apresentam anemia, melena e dor abdominal (DONAWICK, 1966), mas essa forma não é frequente em bovinos (SUMMERS et al., 1995).

## **2.5 Achados de necropsia e de histopatologia**

As alterações de necropsia variam de acordo com a severidade e a duração do quadro clínico. Quando a evolução for rápida, os achados podem estar ausentes (MOTTA et al., 1999; NAKAZATO et al., 2000; SCHILD et al., 2005) ou, pode ocorrer apenas tumefação do encéfalo, determinada pelo edema. Esses achados iniciais podem não ser facilmente perceptíveis. Outra evidência clara de edema no encéfalo é o deslocamento caudal (herniação) do bulbo e do cerebelo no sentido do forame magno. O telencéfalo occipital também pode estar insinuado caudalmente no tentório do cerebelo. Nos casos mais avançados, pode ser visualizado achatamento das circunvoluções cerebrais, áreas amareladas, amolecidas, gelatinosas e deprimidas, hemorragias meníngeas e subcorticais, ou até mesmo, cavitações preenchidas por líquido amarelo (MORO et al., 1994; MAXIE; YOUSSEF, 2007). Essas alterações ocorrem especificamente na substância cinzenta do encéfalo, que é mais bem observada na superfície de corte. As áreas mais afetadas geralmente correspondem aos giros corticais dorsais e estão localizadas principalmente nos sulcos das circunvoluções (NAKAZATO et al., 2000; LEMOS, 2005). Essas lesões apresentam fluorescência quando observadas sob lâmpada ultravioleta de 365 nm (JACKMAN; EDWIN, 1983). Acredita-se

que a fluorescência seja devida a metabólitos lipídicos em macrófagos ou de material semelhante a colágeno de alto peso molecular (MAXIE; YOUSSEF, 2007). Nos casos crônicos pode haver estreitamento acentuado e até desaparecimento da substância cinzenta. Na PEM associada ao enxofre, bovinos podem apresentar o fluido ruminal espesso e escuro (McALLISTER et al., 1997).

Histologicamente, nos casos agudos há necrose laminar e segmentar dos neurônios corticais do telencéfalo, caracterizada por encarquilhamento e eosinofilia citoplasmática, cromatólise e picnose nuclear (neurônios vermelhos). Os neurônios necróticos não devem ser confundidos com os chamados “neurônios escuros” pretos ou azul-escuros, que são artefatos pós-mortais que são formados comumente por manipulação excessiva do encéfalo na retirada do crânio (CAMMERMEYER, 1960; JORTNER, 2006). Edema também é uma alteração comum e consiste de aumento dos espaços perineuronais e perivasculares e formação de numerosos vacúolos no neurópilo (espongiose). A progressão dessa lesão pode, em alguns casos, formar fendas entre as camadas de neurônios corticais ou entre as substâncias cinzenta e branca (BARROS et al., 2006; SANT’ANA et al., 2009a). Estudo ultra-estrutural demonstrou que a espongiose e os aumentos dos espaços perineuronais e perivasculares são atribuídos a edema de astrócitos (MORGAN, 1974). Na toxicose por enxofre, a espongiose pode afetar as camadas profundas de neurônios corticais e se estender para a substância branca adjacente (GOULD, 2000). A necrose neuronal ocorre principalmente nas camadas mais profundas de neurônios (MAXIE; YOUSSEF, 2007), embora em um estudo de casos naturais da doença em bovinos, os neurônios vermelhos e o edema predominaram nas camadas granular externa e interna (SANT’ANA et al., 2009a). Os vasos podem apresentar hipertrofia dos núcleos das células endoteliais, principalmente próximo às áreas afetadas. Infiltração leve de células inflamatórias mononucleares ou, ocasionalmente, polimorfonucleares, pode ser observada (NAKAZATO et al., 2000; SANT’ANA et al., 2009a). Em casos subagudos ou crônicos há necrose do componente neuroectodérmico e infiltração de macrófagos grandes e com citoplasma espumoso (células *gitter*) e pode haver perda do córtex telencefálico (MORO et al., 1994), com formação de uma área cística entre a substância branca e as leptomeninges (lesão residual), semelhante ao que ocorre em casos avançados de meningoencefalite por BoHV (RISSI et al., 2006).

Em alguns casos de PEM, além das lesões corticais descritas anteriormente, podem ocorrer alterações de malacia e edema em estruturas profundas do encéfalo, como mesencéfalo, tálamo, núcleos basais e hipocampo (SANT’ANA et al., 2009a). Essas alterações tem sido descritas na PEM associada à intoxicação por enxofre (McALLISTER et

al., 1992; HAMLEM et al., 1993; JEFFREY et al., 1994; LOW et al., 1996; LONERAGAN et al., 1998). Em bovinos intoxicados naturalmente por enxofre, hemorragias focais no tálamo e mesencéfalo ocorrem secundariamente a degeneração de veias e vênulas (LONERAGAN et al., 1998) e necrose fibrinóide de pequenas arteríolas (HAMLEM et al., 1993; HILL; EBBETT, 1997). Esse quadro é considerado uma forma mais grave da doença associada ao consumo excessivo de enxofre (GOULD, 2000). Alguns autores sugerem que nos casos de PEM em que há necrose neuronal cortical associada a lesões em estruturas mais ventrais do encéfalo, o quadro é sugestivo de toxicose por enxofre, permitindo a diferenciação da PEM relacionada à deficiência de tiamina (JEFFREY et al., 1994; LOW et al., 1996). Quadro semelhante é descrito na PEM em ovinos intoxicados por amprólio (SANT'ANA et al., 2009b). Nesses casos de intoxicação por amprólio, há maior intensidade de hemorragia nas lesões de malacia nas regiões afetadas do encéfalo (SANT'ANA et al., 2009b). Lesões de malacia no cerebelo, às vezes afetando as três camadas de neurônios corticais, provavelmente ocorrem em consequência à compressão sofrida pela estrutura na herniação no forame magno (LIMA et al., 2005; MAXIE; YOUSSEF, 2007). Recentemente foi descrito, em casos naturais de PEM, a presença de astrócitos Alzheimer tipo II na substância cinzenta do telencéfalo associados à necrose neuronal e espongirose do neurópilo (SANT'ANA et al., 2009a). Embora essas células sejam classicamente encontradas no encéfalo em casos de encefalopatia hepática ou renal (SUMMERS et al., 1995) em resposta à ação da amônia e de outras toxinas ao SNC (NOREMBERG, 1987), na PEM nenhuma patogênese foi ainda proposta, até o momento, para sua formação.

Na intoxicação por sal, os achados de necropsia são caracterizados por hemorragia subdural (SCARRATT et al., 1985), congestão dos vasos meníngeos ou diminuição de consistência da porção caudal do cérebro. Além das alterações corticais descritas na polioencefalomalacia (necrose neuronal laminar do córtex telencefálico), alguns casos de intoxicação por sal apresentam acúmulos de eosinófilos nos espaços de Virchow-Robin, nas regiões submeníngeas e, menos comumente, no neurópilo (LEMOS et al., 1997).

Lesões no SNC de bovinos intoxicados por chumbo são descritas nas formas aguda, subaguda e crônica da intoxicação (MAXIE; YOUSSEF, 2007). Os achados de necropsia no encéfalo desses bovinos podem estar ausentes (LEMOS et al., 2004) ou serem semelhantes aos descritos na PEM causada por outras causas (LEMOS et al., 2004; TRAVERSO et al., 2004). Vários autores tem relatado que as áreas de malacia ocorrem preferencialmente no topo dos giros cerebrais (CHRISTIAN; TRYPHONAS, 1971; SEIMIYA et al., 1991; LEMOS et al., 2004; KRAMETTER-FROETSCHER et al., 2007). Alguns autores relatam lesões mais



acentuadas nos lobos telencefálicos occipitais em bovinos com evolução clínica curta e lesões no tronco encefálico, além do córtex, em bovinos com evolução longa (CHRISTIAN; TRYPHONAS, 1971). Um achado frequente em bovinos intoxicados é a degeneração epitelial dos túbulos renais associada a corpúsculos de inclusão eosinofílicos intranucleares álcool-ácidos resistentes (SEIMIYA et al., 1991; TRAVERSO et al., 2004). Histologicamente, além das lesões típicas de PEM, observa-se vasculite (CEBRA, C.; CEBRA, M., 2004).

## 2.6 Diagnóstico

O diagnóstico de polioencefalomalacia é realizado com base nos dados epidemiológicos, clínicos, de necropsia e histopatológicos. Uma ferramenta importante no diagnóstico da doença consiste em visualização de fluorescência das áreas afetadas do encéfalo (principalmente córtex telencefálico) quando expostas à luz ultravioleta (JACKMAN; EDWIN, 1983; GONÇALVES et al., 2001). Também pode ser realizado diagnóstico terapêutico, a partir da recuperação dos bovinos em resposta ao tratamento com tiamina e corticóides (NAKAZATO et al., 2000). Entretanto, vale ressaltar que a tiamina é eficiente no tratamento de outras neuropatias centrais de bovinos (COPPOCK et al., 1991).

Avaliações hematológicas e bioquímicas séricas não apresentam resultados consistentes e contribuem pouco para o diagnóstico da enfermidade (OLKOWSKI, 1997). Entretanto, aumentos de piruvato, lactato, oxiglutarato e da atividade do pirofosfato de tiamina (TPP) e diminuição da atividade da transacetolase eritrocitária são descritas na PEM associada e deficiência de tiamina (RAMMELL; HILL, 1986; RADOSTITS et al., 2007). A atividade de TPP que, em bovinos e ovinos saudáveis, varia de 30-50%, nos casos de PEM pode atingir 70-80% (RADOSTITS et al., 2007). Concentrações séricas de uréia e creatinina podem estar moderadamente aumentadas em alguns casos e as atividades da aspartato aminotransferase e da creatinino fosfoquinase estão substancialmente aumentados em animais severamente afetados (OLKOWSKI, 1997). A análise do líquido pode revelar leve aumento de conteúdo protéico e de células mononucleares, que podem estar vacuolizadas. Essas alterações no líquido cefalorraquidiano também ocorrem nos casos de PEM causadas por intoxicação por chumbo (CEBRA, C.; CEBRA, M., 2004).

Nos casos suspeitos de intoxicação por enxofre, deve-se pesquisar o elemento na água, ração, volumoso ou suplemento mineral ou protéico-energético e mineral que os animais tiveram acesso (RIET-CORREA et al., 2007). A concentração máxima tolerada de enxofre na dieta é 0,4% com base de matéria seca (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1996). Outro

dado importante para a confirmação do diagnóstico é a detecção de concentrações elevadas de sulfeto de hidrogênio na camada gasosa do rúmen de animais doentes (GOULD et al., 1997). Como as concentrações de H<sub>2</sub>S diminuem acentuadamente em animais com anorexia, os bovinos do mesmo lote que não adoeceram também devem ser examinados (GOULD, 1998). Concentrações de enxofre na água, dieta e de sulfeto de hidrogênio na camada gasosa do rúmen superiores a 1.000ppm, 4.000ppm e 1.000ppm, respectivamente, são sugestivas de toxicose (CEBRA, C.; CEBRA, M., 2004). Valores de 2.000ppm de H<sub>2</sub>S ruminal podem preceder o desenvolvimento de PEM em bovinos (GOULD et al., 1997). Pode-se ainda pesquisar a presença de sulfemoglobina no sangue, que pode servir para estimar a absorção ruminal de sulfeto, embora essa substância não seja detectada em algumas situações de excesso dietético de enxofre (GOULD et al., 1997).

Na PEM associada à intoxicação por sal/ privação de água, é necessária a determinação das concentrações de sódio no líquido. Valores acima de 160mEq/L de sódio no líquido cefalorraquidiano são sugestivos de intoxicação por sal em bovinos (LONERAGAN; GOULD, 2002) e ovinos (KANEKO et al., 1997). As concentrações sanguíneas de sódio podem variar dependendo da contribuição do excesso de sal na gênese da doença. O histórico de consumo excessivo de sal mineral ou, principalmente, restrição hídrica por vários dias é crucial para o diagnóstico. Adicionalmente, a presença de hemólise e hemoglobinúria ajuda a distinguir essa condição de outras desordens do SNC. A determinação das concentrações de sódio no conteúdo ruminal, dieta e na água fornecida pode ajudar no estabelecimento do diagnóstico.

Nos casos de intoxicação por chumbo, as concentrações sanguíneas do mineral são bons indicadores no diagnóstico clínico (DWIVEDI et al., 2001; RADOSTITS et al., 2007). Concentrações normais são de 0,05-0,25ppm; 0,35ppm já são considerados tóxicos e concentrações acima de 1ppm causam a morte do animal (RADOSTITS et al., 2007). Apesar disso, alguns autores não recomendam esse teste como único meio de diagnóstico clínico, principalmente em casos isolados, pois as concentrações de chumbo podem variar conforme a evolução da doença (SUMMERS et al., 1995). Outros achados hematológicos incluem anemia regenerativa, presença de pontilhado basofílico eritrocítico (SUMMERS et al., 1995) e, em alguns casos, aumento na concentração de porfirina eritrocitária sanguínea (CHRISTIAN; TRYPHONAS, 1971). Nesse experimento foram constatados níveis de 6,4ppm de porfirina nos bovinos afetados em comparação com 0,6ppm nos bovinos controle. Chumbo também pode ser detectado na urina e nas fezes (SUMMERS et al., 1995). Morfologicamente, há alguns aspectos que diferem a intoxicação por chumbo das outras causas de PEM. Nos casos

de PEM causada por toxicose por chumbo, dificilmente ocorre herniação do cerebelo e, histologicamente, o edema é menos acentuado e as lesões crônicas são menos acentuadas com pouca necrose neuronal e moderada presença de macrófagos espumosos. Em algumas descrições, a necrose neuronal causada por essa intoxicação ocorre preferencialmente no topo das circunvoluções cerebrais (CHRISTIAN; TRYPHONAS, 1971; SEIMIYA et al., 1991; LEMOS et al., 2004; KRAMETTER-FROETSCHER et al., 2007). Para a confirmação do diagnóstico é fundamental detectar a fonte de contaminação por chumbo e quantificar resíduos do mineral em amostras de sangue, fígado e rim. Valores de 10 ppm de chumbo no fígado ou rim confirmam o diagnóstico (RIET-CORREA et al., 2007). Vale ressaltar que o chumbo tem efeito acumulativo no organismo e pode ser detectado no sangue após meses da ingestão (GALEY et al., 1990).

O diagnóstico diferencial de PEM deve ser realizado com outras doenças neurológicas de ruminantes e, no caso dos bovinos, principalmente com a meningoencefalite por herpesvírus bovino (BoHV) (RISSI et al., 2006; RISSI et al. 2008). Na infecção pelo BoHV, as lesões macroscópicas de malacia ocorrem principalmente no telencéfalo frontal e as lesões histológicas compreendem manguitos perivasculares mononucleares em várias regiões do encéfalo e corpúsculos de inclusão intranucleares basofílicos característicos em astrócitos e neurônios (RISSI et al., 2006; RISSI et al. 2008).

## **2.7 Tratamento e controle**

O tratamento pode ser eficaz quando os animais são tratados no início da doença. Recomenda-se a administração intramuscular ou endovenosa lenta de 10-20mg de tiamina/kg e 0,2mg de dexametasona/kg de peso do animal. Esse tratamento deve ser realizado a cada 4-6 horas por três dias consecutivos (LEMOS; RIET-CORREA, 2007). Esse tratamento não foi eficaz em alguns casos de PEM associados às intoxicações por melão (MELLA et al., 1976) ou por enxofre (BULGIN et al., 1996). Retorno da atitude e controle muscular pode ser visto dentro de 12 horas de tratamento, bem como melhora da acuidade visual que pode estar completa em 48 horas (CEBRA, C.; CEBRA, M., 2004). Em animais severamente afetados e recuperados, é comum a permanência da cegueira e de outros déficits de nervos cranianos.

Na PEM associada à toxicose por enxofre, não há tratamento específico e deve-se procurar a provável fonte do mineral e eliminá-la da alimentação dos animais. Em seguida, recomenda-se fornecer alimentos sabidamente baixos em enxofre. Não se sabe se a adição de tiamina a dieta pode prevenir PEM relacionada ao enxofre (OLKOWSKI et al., 1992). De

forma geral, quando há recuperação dentro de poucas horas após o tratamento com tiamina, o quadro é sugestivo de PEM relacionada à deficiência de tiamina; falha nesse tratamento é indicativa de toxicose por enxofre (RADOSTITS et al., 2007).

No caso da intoxicação por sal/ privação de água, deve-se restituir a água lentamente aos animais. Inicialmente, é recomendado administrar 7 ou 10% do peso corporal em água, para animais adultos e neonatos, respectivamente, quatro a seis vezes por dia e, a partir do quarto dia, fornecer água livremente. Nos animais com sinais clínicos, a água pode ser administrada por sonda nasogástrica. Em animais severamente afetados, o edema cerebral pode ser reduzido com administração intravenosa de manitol (0,5-2mg/kg) em uma solução de 20% ou glicerina oral (1mL/kg) diluída a 50% em água (ANGELOS et al., 1999). Corticosteróides podem ser utilizados, porém podem promover retenção de sódio e hiperglicemia (CEBRA, C.; CEBRA, M., 2004). Não se sabe se a tiamina é eficiente nos casos de PEM relacionada à intoxicação por sal (RIET-CORREA et al., 2007).

Na intoxicação por chumbo, o tratamento geralmente não é realizado, porém pode ser instituído nos casos menos graves. Além da retirada da fonte de chumbo dos animais, recomenda-se remoção do material contaminado por ruminotomia nos casos agudos, uso de catárticos, como sais de magnésio, para diminuir a absorção e aumentar a excreção intestinal e administração de hidróclorido de tiamina para reduzir os sinais clínicos neurológicos (COPPOCK et al., 1991; CEBRA, C.; CEBRA, M., 2004).

### **3 TRABALHO 1**

## **POLIOENCEFALOMALACIA EM BOVINOS: EPIDEMIOLOGIA, SINAIS CLÍNICOS E DISTRIBUIÇÃO DAS LESÕES NO ENCÉFALO**

Fabiano J.F. de Sant'Ana, Daniel R. Rissi, Ricardo B. de Lucena, Ricardo A.A. Lemos, Ana  
Paula A. Nogueira e Claudio S.L.Barros

PUBLICADO NO V. 29, N.7, P. 487-497

**PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA**

## Polioencefalomalacia em bovinos: epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões no encéfalo<sup>1</sup>

Fabiano J.F. de Sant'Ana<sup>2</sup>, Daniel R. Rissi<sup>2</sup>, Ricardo B. de Lucena<sup>2</sup>, Ricardo A.A. Lemos<sup>3</sup>, Ana Paula A. Nogueira<sup>4</sup> e Claudio S.L. Barros<sup>5\*</sup>

**ABSTRACT.**- Sant'Ana F.J.F., Rissi D.R., Lucena R.B., Lemos R.A.A., Nogueira A.P.A. & Barros C.S.L. 2009. [**Bovine polioencefalomalacia: epidemiology, clinical signs and distribution of lesions in the brain.**] Polioencefalomalacia em bovinos: epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões no encéfalo. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 29(7):487-497. Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil. E-mail: claudioslbarros@uol.com.br

Thirty one cases of polioencefalomalacia (PEM) diagnosed from 1999-2008 in cattle from the Southern (13 cases) and Midwestern (18 cases) Brazil were studied. Morbidity (0.04%-6.66 %), mortality (0.04%-6.66 %), and lethality (50%-100%) rates were similar in both regions studied. There was no clear association between PEM cases and age, sex or seasonality. Cases occurred mainly in cattle raised at pasture; in the Southern the disease affected mainly young cattle (one-year old or less) while mainly older cattle (three-year-old or older) were affected in the Midwest. Clinical signs more frequently observed included blindness, incoordination, circling, opisthotonus, recumbence and peddling movements. Clinical course varied from 12 hours to 8 days (average three days and a half). In 11 cases no gross changes were observed in the brain. Main gross findings in the brain of remaining cases included congestion with swelling and flattening of gyri, softening and yellow discoloration of cerebral cortex, hemorrhagic foci in the brain stem, cerebellum and telencephalon, and cerebellar herniation. The main histopathological changes were in the cortex of occipital, parietal and frontal telencephalic lobes; however less prominent and less frequently found lesions occurred in the hippocampus, basal nuclei, thalamus, midbrain, and cerebellum. The type of microscopic cortical lesions was consistent in all cases and included segmentar laminar neuronal necrosis (red neurons), spongiosis, swollen of vascular endothelial nuclei, Alzheimer type II astrocytes and infiltration of *gitter* cells. In 20% of the cases there was mild lymphohistiocytic cellular infiltrate and in 13% of the cases there was mild infiltrate by neutrophils and eosinophils. Additionally, mild to moderate necro-hemorrhagic lesions were observed in 49% of the cases in the basal nuclei, in 39% of the cases in brain stem and in 26% of the cases in the thalamus. Brain lesions were consistently found in the cortical laminae of the occipital, parietal and frontal telencephalic lobes. In such locations, most frequently affected cortical layers both by neuronal necrosis and edema were external and internal granular layers. Both gyri and sulci were equally affected.

INDEX TERMS: Diseases of cattle, neuropathology, distribution of lesions, polioencefalomalacia.

<sup>1</sup> Recebido em 20 de janeiro de 2009.

Aceito para publicação em 11 de fevereiro de 2009.

Parte da tese de Doutorado do primeiro autor. Financiado integralmente pelo Grant de Pesquisador 1-A do CNPq (Proc. 307876/2006-3).

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Patologia Veterinária, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS 97105-900, Brasil. Bolsista do CNPq.

<sup>3</sup> Departamento de Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Av. Felinto Miller s/n, Cidade Universitária, Campo Grande, MS 79070-900, Brasil.

<sup>4</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, FMVZ, UFMS, Campo Grande, MS.

<sup>5</sup> Departamento de Patologia, UFSM, Santa Maria, RS 97105-900. \*Pesquisador 1-A do CNPq (Proc.307876/2006-3) e autor para correspondência: claudioslbarros@uol.com.br

**RESUMO.**- Trinta e um casos de polioencefalomalacia (PEM) diagnosticados de 1999-2008 em bovinos do Sul (13 casos) e Centro-Oeste (18 casos) brasileiros foram estudados. As taxas de morbidade (0,04%-6,66 %), mortalidade (0,04%-6,66 %) e letalidade (50%-100%) foram semelhantes em ambas as regiões estudadas. Não houve uma associação clara entre os casos de PEM e a idade, sexo dos bovinos e sazonalidade. Os casos ocorreram principalmente em bovinos criados de forma extensiva em pastagem. Na Região Sul a doença afetou principalmente bovinos jovens (um ano de idade ou menos), enquanto que principalmente bovinos mais velhos (3 anos de idade ou mais) foram afetados no Centro-Oeste. Os sinais clínicos mais frequentemente observados incluíram cegueira, incoordenação, andar em círculos, opistótono, decúbito e movimentos de pedalagem. A evolução do quadro clínico variou de 12 horas a 8 dias (média 3 dias e meio). Em 11 encéfalos não foram observadas alterações macroscópicas; as principais alterações macroscópicas nos outros casos incluíam congestão com tumefação e achatamento das circunvoluções, amolecimento e amarelamento do córtex telencefálico, focos de hemorragia no tronco encefálico, cerebelo e telencéfalo e herniação cerebelar. As principais alterações histológicas ocorreram no córtex dos lobos telencefálicos occipital, parietal e frontal; no entanto, lesões menos acentuadas e menos frequentemente observadas ocorreram no hipocampo, núcleos da base, tálamo, mesencéfalo e cerebelo. O tipo de lesão microscópica cortical era consistente em todos os casos e incluía necrose neuronal (neurônio vermelho) laminar segmentar, esponjoso, tumefação do núcleo das células endoteliais, astrócitos Alzheimer tipo II e infiltração por células *Gitter*. Em 20% dos casos havia um leve infiltrado celular linfo-histiocitário e em 13% dos casos havia leve infiltrado de neutrófilos e eosinófilos. Adicionalmente, lesões necro-hemorrágicas leves ou moderadas foram observadas em 49% dos casos nos núcleos da base, em 39% dos casos no tronco encefálico e em 26% dos casos no tálamo. Lesões telencefálicas foram consistentemente observadas nas lâminas dos córtices dos lobos occipital, parietal e frontal. Nessas regiões as camadas granular externa e interna foram as mais afetadas tanto por neurônios necróticos quanto por edema em todas as regiões avaliadas. Tanto os giros quanto os sulcos foram afetados igualmente.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Doenças de bovinos, neuropatologia, distribuição de lesões, polioencefalomalacia.

## INTRODUÇÃO

Polioencefalomalacia (PEM) é um diagnóstico morfológico para necrose com amolecimento (*malacia*) da substância cinzenta (*polio*) do encéfalo. No entanto, em 1956, no Colorado, EUA, o termo PEM foi empregado para designar não somente uma lesão, mas uma doença específica de ruminantes, presumivelmente causada por deficiência de tiamina e caracterizada por necrose do córtex

telencefálico (Jensen et al. 1956), e tem sido usado desde então como sinônimo dessa condição em ruminantes. A denominação necrose cerebrocortical é usada para designar a mesma condição na Europa (Markson et al. 1972, Edwin et al. 1979, Jeffrey et al. 1994).

A partir da década de 70 do século passado, muitos pesquisadores observaram que a PEM em ruminantes pode ter outras causas, incluindo intoxicação por enxofre (Gould 1998, 2000, Loneragan et al. 1998, Kul et al. 2006), intoxicação por sal associada à privação de água (Lindley 1977, Trueman & Clague 1978, Scarratt et al. 1985), intoxicação por chumbo (Christian & Tryphonas 1971, Priester & Hayes 1974, Lemos et al. 2004, Traverso et al. 2004, Krametter-Froetscher et al. 2007), administração de determinados anti-helmínticos, como levamisole e tiabendazole (Linklater et al. 1977), administração de análogos da tiamina, como o amprólio (Loew & Dunlop 1972, Markson et al. 1974, Morgan 1974), ingestão de cadáveres (Purisco 1982), ingestão de melaço - provavelmente associada à intoxicação por enxofre - (Mella et al. 1976), mudança brusca de pastos ruins para outros de ótima qualidade (Moro et al. 1994), ingestão de plantas ricas em tiaminases (Pritchard & Eggleston 1978, Ramos et al. 2005), forma aguda da intoxicação por *Phalaris* spp. (Anderton et al. 1994) e infecção por herpesvírus bovino (Carrillo et al. 1983a,b). Em algumas dessas situações, a participação da tiamina na patogênese da PEM foi questionada, uma vez que não havia alterações nas concentrações sanguíneas dessa substância.

No Brasil, a PEM tem sido descrita em bovinos, ovinos, bubalinos e caprinos (Colodel et al. 1998, Nascimento et al. 2003, Lemos 2005, Lima et al. 2005, Lemos & Riet-Correa 2007, Guimarães et al. 2008). Em bovinos são descritos surtos da doença nos estados do Rio Grande do Sul (Santos et al. 1983, Riet-Correa et al. 1998, Motta et al. 1999, Sanches et al. 2000, Traverso et al. 2001, Schild et al. 2005), Minas Gerais (Ferreira et al. 1986, Moro et al. 1994), Pernambuco (Vieira et al. 2007), Mato Grosso do Sul, São Paulo (Purisco 1982, Nakazato et al. 2000, Gonçalves et al. 2001, Lemos 2005, David et al. 2007), Mato Grosso e Goiás (Grecco et al. 2001, Lemos 2005).

O objetivo desse trabalho é descrever os achados epidemiológicos, clinicopatológicos e a distribuição das alterações no encéfalo de 31 casos naturais de polioencefalomalacia em bovinos do Rio Grande do Sul e do Centro-Oeste brasileiro.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados 31 casos de polioencefalomalacia diagnosticados em bovinos de 1999-2008 no Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e no Laboratório de Anatomia Patológica (LAP) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Treze casos eram oriundos do Rio Grande do Sul (Quadro 1) e 18 casos do Centro-Oeste brasileiro (Quadro 2).

Para a caracterização do tipo, intensidade e distribuição das lesões no encéfalo desses 31 bovinos, os cérebros foram coletados inteiros e fixados em formol a 10%. Fragmentos

**Quadro 1. Dados epidemiológicos de 13 casos de polioencefalomalacia diagnosticados em bovinos no Rio Grande do Sul**

Caso	Município	Raça	Idade	Sexo	Época do diagnóstico	Bovinos sob risco	Bovinos afetados	Bovinos mortos	Duração do curso clínico
V-0425-02	Val de Serra	SRD <sup>a</sup>	1 ano	Macho	Setembro/2002	n.i. <sup>b</sup>	n.i.	2	8 dias
V-0433-02	Val de Serra	SRD	1 ano	Macho	Setembro/2002	n.i.	n.i.	2	2 dias
V-0122-04	Cacequi	Red Angus	5 meses	Fêmea	Fevereiro/2004	150	8	4	5 dias
Vn-341-04	Agudo	SRD	7 meses	Fêmea	Outubro/2004	n.i.	n.i.	1	5 dias
Vn-158-05	Santa Maria	SRD	2 anos	Macho	Maio/2005	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
V-0926-06	Silveira Martins	SRD	1 ½ ano	Macho	Setembro/2006	15	1	1	3 dias
V-1003-07	Pinhal Grande	SRD	2 anos	Macho	Agosto/2007	30	1	1	4 dias
V-1100-07	São Pedro do Sul	Zebuino	1 ano	Macho	Outubro/2007	400	1	1	8 dias
Vn-086-08	Nova Palma	SRD	80 dias	Macho	Março/2008	n.i.	11	11	2 dias
V-0808-08	Júlio de Castilhos	SRD	3 anos	Macho	Agosto/2008	800	1	1	n.i.
V-0904-08	Maçambará	Angus	10 meses	Fêmea	Setembro/2008	800	2	2	2 dias
V-0935-08	Ibiraiaras	Zebuino	6 meses	Fêmea	Setembro/2008	n.i.	2	2	2 dias
V-0967-08	Maçambará	Angus	8 meses	Macho	Outubro/2008	800	2	2	2 dias

<sup>a</sup> SRD = sem raça definida, <sup>b</sup> n.i. = não informado.

**Quadro 2. Dados epidemiológicos de 18 casos de polioencefalomalacia diagnosticados em bovinos do Centro-Oeste brasileiro**

Caso	Município	Raça	Idade	Sexo	Época do diagnóstico	Bovinos sob risco	Bovinos afetados	Bovinos mortos	Duração do curso clínico
9644	Bandeirantes <sup>a</sup>	SRD <sup>b</sup>	2 anos	Macho	Janeiro/1999	2.000	3	2	3 dias
10248	Campo Grande <sup>a</sup>	Nelore	1 ½ ano	Macho	Janeiro/2000	350	2	2	4 dias
11655	Porto Murtinho <sup>a</sup>	Nelore	2 anos	Macho	Março/2002	30.000	12	12	n.i. <sup>c</sup>
11656	Coxim <sup>a</sup>	Nelore	1 ½ ano	Fêmea	Março/2002	1.000	2	1	n.i.
11937	Pedra Preta <sup>d</sup>	Nelore	5 anos	Fêmea	Julho/2002	n.i.	1	1	n.i.
12709	Anastácio <sup>a</sup>	Nelore	5 anos	Fêmea	Maio/2003	500	1	1	n.i.
13790	Rosário Oeste <sup>d</sup>	Nelore	2 anos	Fêmea	Maio/2004	218	1	1	2 dias
13894	Costa Rica <sup>a</sup>	Nelore	1 ano	Fêmea	Julho/2004	n.i.	n.i.	n.i.	3 dias
14105	Barra dos Garças <sup>d</sup>	Nelore	6 anos	Fêmea	Setembro/2004	n.i.	n.i.	n.i.	5 dias
14282	Itumbiara <sup>e</sup>	SRD	2 ½ anos	n.i.	Janeiro/2005	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
14454	Torixoréu <sup>d</sup>	Nelore	5 anos	Fêmea	Abril/2005	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
14498	Camapuã <sup>a</sup>	Nelore	3 anos	Macho	Abril/2005	n.i.	2	1	4 dias
V-0239-05	Silvânia <sup>e</sup>	SRD	8 anos	n.i.	Agosto/2005	n.i.	n.i.	n.i.	12 horas
14844	Sidrolândia <sup>a</sup>	Charolês	1 ½ ano	Fêmea	Novembro/2005	n.i.	2	2	n.i.
14932	Terenos <sup>a</sup>	Nelore	3 ½ anos	Macho	Fevereiro/2006	n.i.	n.i.	n.i.	2 dias
15744	Terenos <sup>a</sup>	Nelore	5 anos	Fêmea	Fevereiro/2008	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
15795	Tacuru <sup>a</sup>	SRD	1 ½ ano	Fêmea	Março/2008	1.850	50	30	n.i.
15931	Terenos <sup>a</sup>	SRD	Adulto	Macho	Agosto/2008	1.200	2	1	n.i.

<sup>a</sup> Mato Grosso do sul, <sup>b</sup> sem raça definida, <sup>c</sup> não informado, <sup>d</sup> Mato Grosso, <sup>e</sup> Goiás.

adicionais não-fixados de tálamo, cerebelo, medula espinhal cervical, bulbo olfatório e de córtex frontal foram testados por imunofluorescência direta para raiva e submetidos à cultura celular para diagnóstico de infecção por herpesvírus bovino (BoHV). Adicionalmente foi colhido e fixado em formol, o complexo gânglio de Gasser, *rete mirabile* carotídea e hipófise (GRH). Após a fixação, foram realizados cortes transversais no encéfalo com intervalos de 1-2cm para avaliação macroscópica. As seguintes seções foram preparadas para avaliação microscópica: cerebelo, bulbo na altura do óxex, ponte com pedúnculos cerebelares, mesencefalo na altura dos colículos rostrais, tálamo, núcleos basais e hipocampo; foram também examinados os lados direito e esquerdo do telencéfalo frontal, parietal e occipital. Adicionalmente, o exame histológico foi realizado em um monobloco do complexo GRH. Todos os fragmentos foram processados rotineiramente para histologia, incluídos em parafina e corados pela hematoxilina-eosina.

As alterações observadas no encéfalo foram graduadas de acordo com a intensidade numa escala de 0 (ausência de le-

são) a 3 (lesão acentuada). Cada lesão tinha seu grau aferido de acordo com a média de percepção subjetiva de três patologistas que examinaram todos os casos. Foram avaliados o grau de intensidade e a distribuição nos diferentes locais examinados das seguintes alterações histológicas: gliose focal, gliose difusa, tumefação de núcleos de células endoteliais, separação entre as substâncias cinzenta e branca, edema de neurópilo, congestão, hemorragia, necrose neuronal (caracterizada por picnose nuclear e eosinofilia e encarquilhamento citoplasmáticos), neuronofagia, malacia (o termo malacia foi empregado aqui significando necrose de todas as células neuroectodérmicas com manutenção das células mesenquimais (i.é, células *Gitter*, células endoteliais) que sobrevivem e participam do processo [Innes & Saunders 1962]), lesão residual (estrutura cavitária formada por pequenos vasos e numerosas células *Gitter* remanescentes) e infiltrado inflamatório perivascular e/ou meníngeo. A distribuição do edema e da necrose neuronal (neurônio vermelho) nas lâminas da substância cinzenta do telencéfalo foi também determinada. Os critérios para inclusão



de casos neste estudo foram: 1) casos em que havia necrose do córtex telencefálico 2) mas, sem lesões inflamatórias acentuadas e 3) que apresentaram respectivamente imunofluorescência direta e isolamento viral negativos para raiva e BoHV.

## RESULTADOS

Os principais dados epidemiológicos dos casos de PEM observados no Rio Grande do Sul (RS) e Centro-Oeste encontram-se respectivamente nos Quadros 1 e 2. A maioria (9/13 ou 70%) dos casos diagnosticados no RS ocorreu em bovinos de um ano de idade ou menos, enquanto no Centro-Oeste, metade dos casos (9/18) ocorreu em bovinos com idade superior ou igual a três anos, e apenas cinco bovinos (27%) tinham menos de um ano e meio de idade. Não se observou sazonalidade na ocorrência da doença nas duas regiões geográficas estudadas.

Os coeficientes de morbidade (0,04%-6,66%), mortalidade (0,04%-6,66%), e letalidade (50%-100%) foram semelhantes nas duas regiões estudadas. Na maioria das propriedades onde ocorreram os casos, a letalidade foi de 100%. Em dois casos de uma mesma propriedade no RS (V-0904-08 e V-0967-08, Quadro 1), a criação era semi-intensiva com a alimentação dos bovinos complementada com feno e ração. Em todas as outras propriedades das duas regiões estudadas, o sistema de criação era extensivo, com os bovinos no pasto. Em dois casos do Centro-Oeste (10248, 11656, Quadro 2) e em um do RS (V-1003-07, Quadro 1), havia informação no histórico de transferência recente de bovinos entre propriedades. Um bovino do RS (V-1003-07, Quadro 1) apresentou PEM após ser colocado em um pasto adubado com uréia há 20 dias. Um outro bovino da região Centro-Oeste (9644, Quadro 2) pertencia a um rebanho que estava no pasto de *Brachiaria decumbens* e recebia sal protéico, probiótico e 800g de milho/dia/bovino.

O Quadro 3 mostra a frequência de sinais clínicos descritos em 30 casos de PEM. Os principais sinais observados foram **cegueira, incoordenação, andar em círculos, opistótono**, decúbito e movimentos de pedalagem. Em um caso da região Centro-Oeste (V-0239-05, Quadro 2) os sinais clínicos não foram informados. A duração dos sinais clínicos variou de 12 horas a oito dias (média de três dias e meio); no entanto, essa informação não estava disponível em 12 casos. Os Bovinos 14498 e 15744 (Quadro 2) do Centro-Oeste foram tratados com tiamina, porém morreram alguns dias após o tratamento. Na propriedade do Bovino 14498 (Quadro 2), um outro bovino apresentou os mesmos sinais clínicos, foi tratado com tiamina e corticosteróides e se recuperou.

Os principais achados descritos no encéfalo consistiam de congestão e tumefação com achatamento das circunvoluções cerebrais (Fig. 1). Em alguns casos, havia áreas multifocais amolecidas e amareladas. Adicionalmente, focos de hemorragia foram visualizados em quatro casos no tronco encefálico, cerebelo ou telencefalo. Em três casos foi anotada a observação de deslocamento

**Quadro 3. Frequência de sinais clínicos em 30 casos de polioencefalomalacia em bovinos diagnosticados no Rio Grande do Sul e Centro-Oeste brasileiro**

Sinais clínicos	Frequência
Incoordenação	17 (57%)
Decúbito	17 (57%)
Cegueira	14 (47%)
Opistótono	11 (37%)
Movimentos de pedalagem	6 (20%)
Andar em círculos	5 (17%)
Ataxia	3 (10%)
Quedas frequentes	3 (10%)
Bruxismo	3 (10%)
Sialorréia	3 (10%)
Nistagmo	3 (10%)
Depressão	2 (6,7%)
Afastamento do rebanho	2 (6,7%)
Convulsões	2 (6,7%)
Emagrecimento progressivo	2 (6,7%)
Apatia	2 (6,7%)
Desidratação	2 (6,7%)
Secreção nasal	2 (6,7%)
Ausência de reflexo de ameaça	2 (6,7%)
Paralisia flácida dos membros pélvicos	2 (6,7%)
Tetania	2 (6,7%)
Agressividade	2 (6,7%)
Miose	1 (3,3%)
Anorexia	1 (3,3%)
Fezes ressecadas	1 (3,3%)
Estrabismo	1 (3,3%)
Diminuição de tônus da língua	1 (3,3%)
Paralisia da cauda	1 (3,3%)
Prostração	1 (3,3%)
Balanços da cabeça	1 (3,3%)
Hiperexcitabilidade	1 (3,3%)
Rigidez dos membros pélvicos	1 (3,3%)
Diarréia	1 (3,3%)
Fraqueza	1 (3,3%)
Anúria	1 (3,3%)
Febre	1 (3,3%)
Conjuntivite	1 (3,3%)

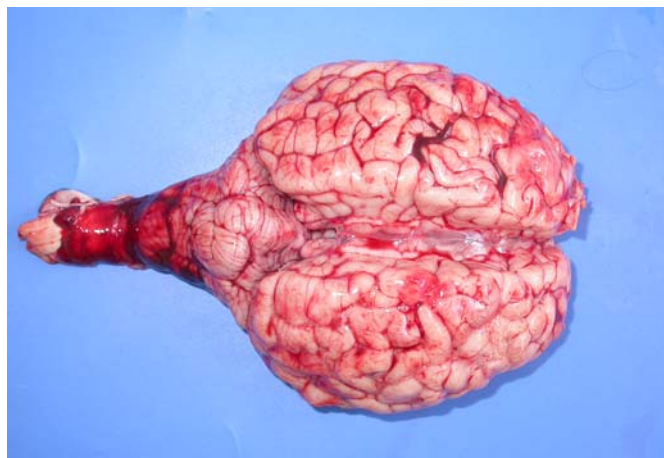


Fig. 1. Encéfalo do Bovino Vn-086-08 afetado por polioencefalomalacia. O encéfalo está tumefeito, tem as circunvoluções telencefálicas achatadas, e o verme cerebelar está prolapsado e hemorrágico.

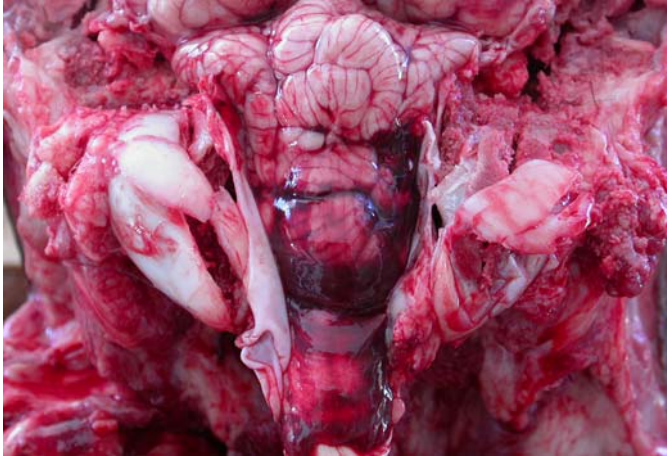


Fig.2. Herniação do cerebelo pelo forame magno e hemorragia subpial no Bovino Vn-086-08 afetado por polioencefalomalacia.

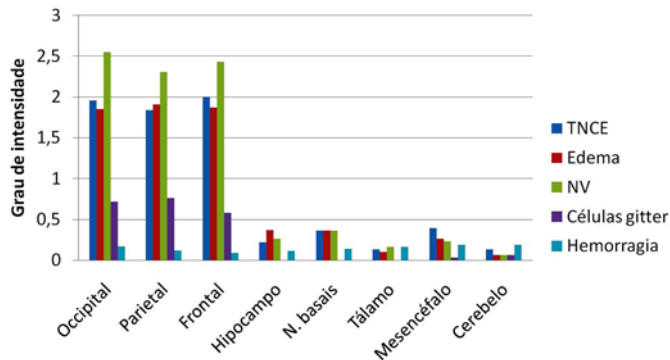


Fig.3. Distribuição e intensidade das lesões histológicas no encéfalo em 31 casos de polioencefalomalacia em bovinos. Graus de intensidade de 0 (ausência de lesão) a 3 (lesão acentuada) foram atribuídos. TNCE = tumefação de núcleos de células endoteliais; NV = neurônios vermelhos (neurose neuronal), N.Basais = núcleos basais.

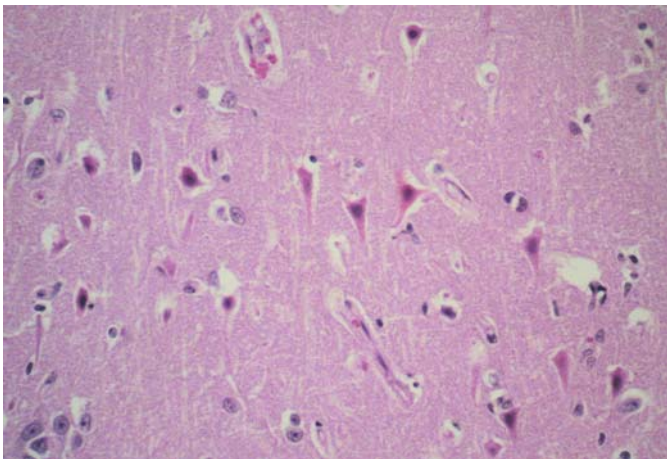


Fig.4. Aspecto histológico do córtex telencefálico do lobo parietal do Bovino V-1003-07 mostrando necrose neuronal laminar. O citoplasma dos neurônios necróticos está encarquilhado e fortemente eosinofílico (neurônios vermelhos); há picnose nuclear e o nucléolo não é mais visualizado. HE, obj.40x.

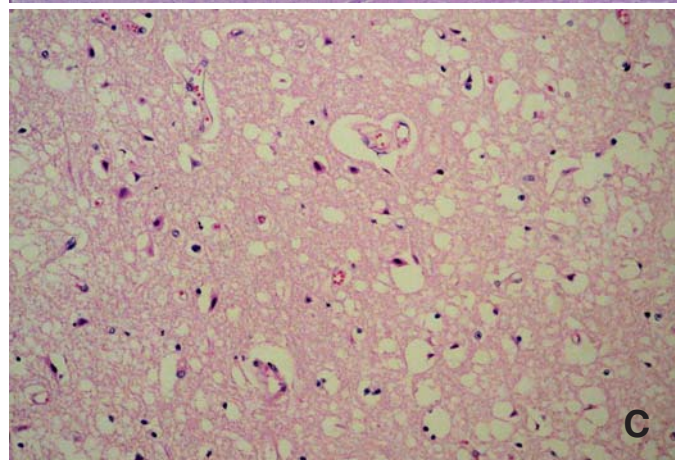
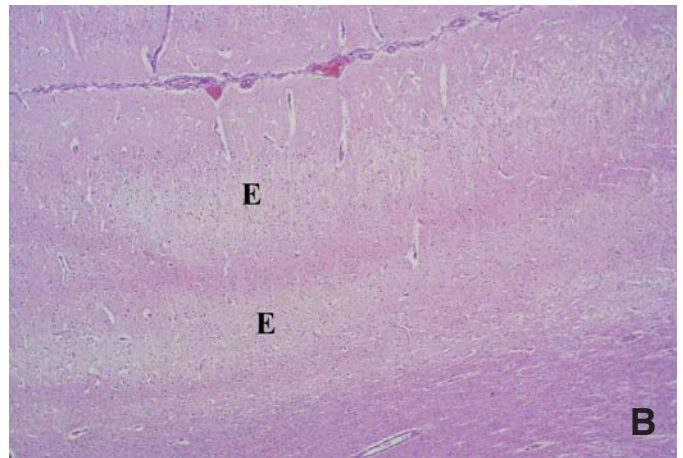
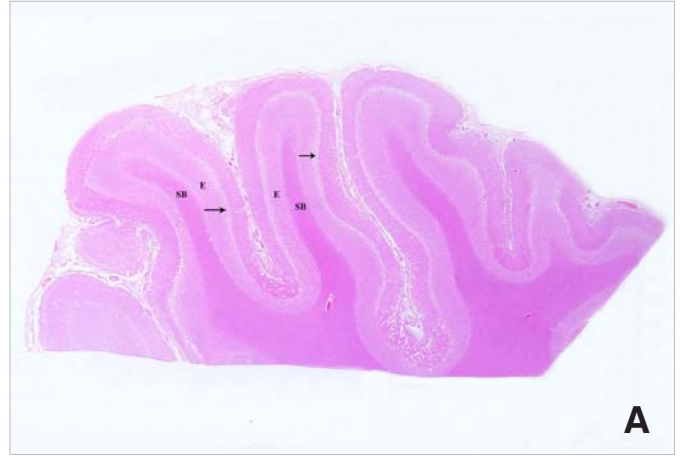


Fig.5. Aspecto histológico do edema do córtex telencefálico. (A) Bovino V-1100-07. O edema (E) aparece como uma linha clara (esponjosa) na parte mais profunda do córtex. Uma clivagem (seta) entre a parte mais superficial do córtex e a porção edemaciada é evidente. SB = substância branca. HE, obj.2,5x. (B) Bovino 15931. O edema (E) aparece como duas faixas claras no córtex telencefálico. Os espaços claros ao redor de neurônios e vasos dá o aspecto conhecido como esponjoso. HE, obj.10x. (C) Bovino 15744. Observe a distensão dos espaços perineuronais e perivasculares. Os neurônios apresentam necrose neuronal semelhante à mostrada na Fig.4. HE, obj.40x.

caudal do cerebelo em direção ao forame magno (herniação cerebelar) (Fig.2). Em 11 dos 31 casos (35%) não foram observadas alterações macroscópicas.

A Fig. 3 mostra que as principais alterações microscópicas predominaram no córtex occipital, parietal e frontal, mas em muitos casos lesões menos acentuadas também foram detectadas no hipocampo, núcleos basais, tálamo, mesencéfalo e cerebelo. A distribuição das lesões não variou entre os casos do RS e do Centro-Oeste. Em nenhum dos casos foram observadas alterações histológicas no bulbo, na ponte e no complexo GRH. As principais alterações microscópicas no córtex dos hemisférios telencefálico direito e esquerdo foram consistentes em todos os casos e incluíam de necrose neuronal segmentar e laminar (Fig.4), edema (esponjoso) perineuronal, perivascular e no neurópilo (Fig.5), tumefação de núcleos de células endoteliais dos vasos (Fig.6) e hipertrofia de astrócitos; ocasionalmente eram observados grupos de

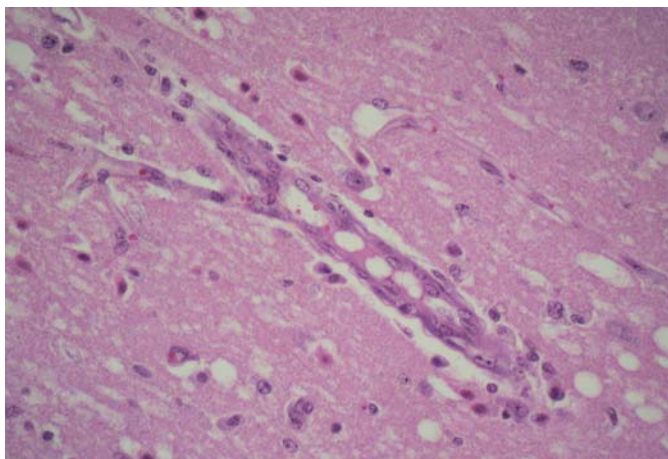


Fig.6. Vaso do córtex telencefálico do Bovino 14454, mostrando tumefação do núcleo das células endoteliais. Os neurônios adjacentes ao vaso estão necróticos. HE, obj.40x.

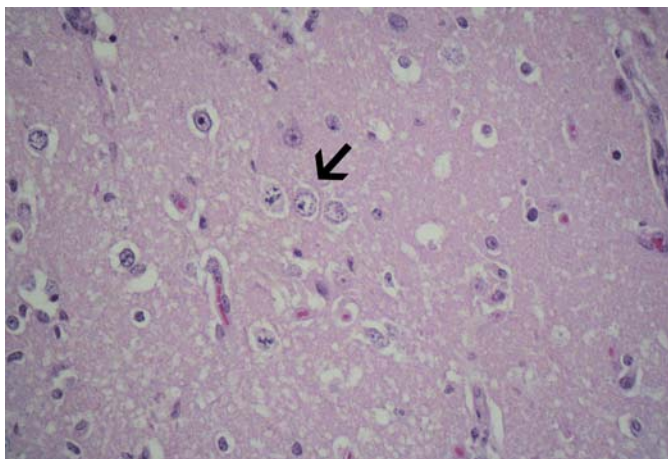


Fig.7. Hipertrofia de astrócitos no córtex telencefálico do Bovino 14454; observe grupos de astrócitos (seta) com núcleos vesiculosos e tumefeitos. Essa morfologia é compatível com a de astrócitos Alzheimer tipo II. HE, obj.40x.

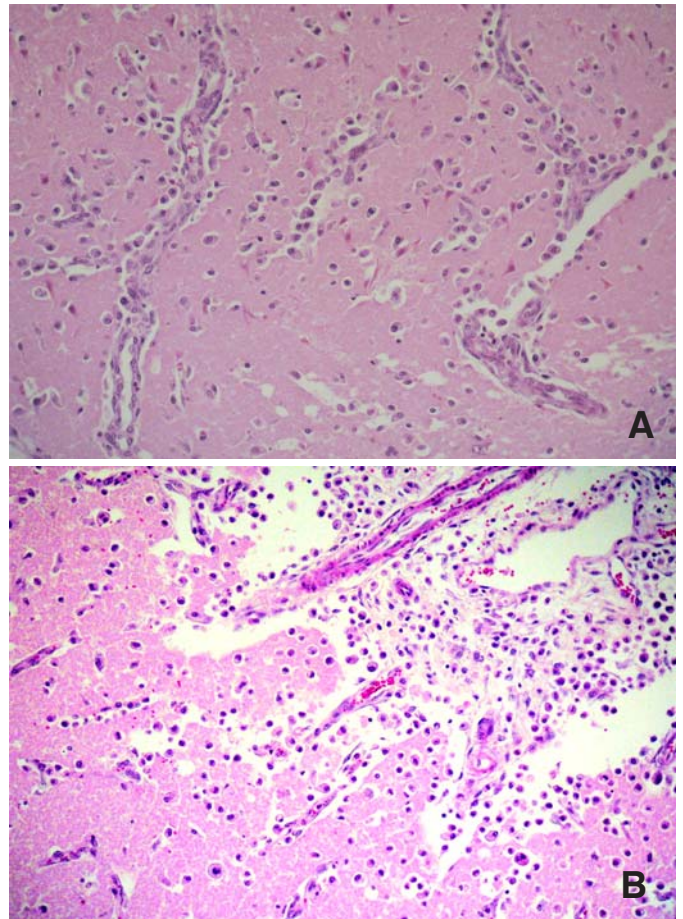


Fig.8. Infiltração de macrófagos espumosos (células *Gitter*) no encéfalo do Bovino 14454; (A) Essas células podem ser vistas aqui nos espaços perivasculares do córtex e no neurópilo. HE, obj.40x. (B) Células *Gitter* sob a leptomeninge do córtex occipital. HE, obj.40x.

dois ou três astrócitos com núcleos vesiculosos e tumefeitos, morfologia compatível com astrócitos Alzheimer tipo II (Fig.7); nos casos com lesões mais avançadas, numerosos macrófagos tumefeitos com citoplasma espumoso (células *gitter*) eram observados principalmente no espaço perivascular e neurópilo do córtex (Fig.8A) e sob as leptomeninges (Fig.8B). Os neurônios necróticos eram caracterizados por encarquilhamento e hipereosinofilia citoplasmáticas, picnose nuclear sem evidência nucleolar e desaparecimento da substância de Nissl (Fig.4). Ocasionalmente, os núcleos dos neurônios necróticos apresentavam aspecto vítreo. A necrose neuronal ocorreu tanto nos topos quanto nos sulcos das circunvoluções cerebrais. O edema na substância cinzenta era acentuado e, em alguns casos, deixava o neurópilo com aspecto esponjoso; ocorria separando a substância cinzenta da branca ou entre camadas de neurônios da substância cinzenta (Fig.5). Em seis casos, havia manguitos perivasculares focais ou multifocais leves de linfócitos e macrófagos e, em quatro outros bovinos, o infiltrado era constituído de neutrófilos e eosinófilos peri-

vasculares e no neurópilo. Gliose focal ou difusa, congestão e hemorragias multifocais foram observadas com pouca frequência. Em nenhum caso foi observada neurofagia e ou lesão residual (cicatriz). Lesões no tronco encefálico ocorreram em 12 casos (39%), eram leves ou moderadas e restritas ao teto do mesencéfalo; caracterizavam-se por áreas geralmente simétricas e bilaterais de necrose neuronal focal, edema de neurópilo, tumefação de núcleos de células endoteliais, hemorragias ocasionais, esferóides axonais focais e raras células *gitter*. No tálamo, as alterações eram mais leves, focais, semelhantes às do mesencéfalo e ocorreram em oito casos, especialmente afetando os núcleos talâmicos ventrais pósterolateral e pósteromedial. Treze bovinos apresentaram alterações de PEM nos núcleos basais; incluindo o núcleo caudado em seis casos e putame em cinco casos. Essas alterações foram semelhantes às encontradas no tálamo. Em sete casos, havia alterações semelhantes no hipocampo. Lesões hemorrágicas multifocais e perivasculares, leves ou moderadas, foram observadas no tálamo, núcleos basais e hipocampo. Poucos casos apresentaram alterações no cerebelo; em quatro bovinos havia hemorragias extensas afetando várias camadas do córtex cerebelar, em um caso havia necrose de neurônios da

camada de células granulares e em outro ocorreu necrose multifocal dos neurônios de Golgi, que ocorrem em meio a camada de células granulares do cerebelo.

A distribuição da necrose neuronal nas lâminas de neurônios do córtex occipital, parietal e frontal está na Fig.9; as principais regiões afetadas foram as camadas de células piramidais, granular externa, molecular e granular interna. A distribuição do edema nas mesmas regiões está na Fig.10; o edema foi mais acentuado nas camadas granular externa, de células piramidais, granular interna, molecular e ganglionar. As camadas granular externa e interna foram as regiões mais afetadas tanto por neurônios necróticos como por edema em todas as regiões avaliadas.

### DISCUSSÃO

Nos casos avaliados neste estudo a polioencefalomalacia (PEM) caracterizou-se por uma doença de evolução aguda (12 horas) ou subaguda (8 dias). No entanto casos crônicos (Gonçalves et al. 2001) e mesmo de recuperação (Nakazato et al. 2000, Riet-Correa et al. 2007, Vieira et al. 2007) de PEM têm sido descritos. Dados epidemiológicos semelhantes aos observados neste estudo foram mencionados por outros autores, indicando que a PEM pode ocorrer na forma de surtos (Moro et al. 1994, Nakazato et al. 2000) ou como casos isolados (Ferreira et al. 1986, Lemos 2005) e não apresenta sazonalidade (Nakazato et al. 2000, Lemos 2005). Os coeficientes de morbidade (0,04%-6,66%), mortalidade (0,04%-6,66%), e letalidade (50%-100%), observados neste estudo foram semelhantes aos relatados por outros autores que indicam que a morbidade e mortalidade podem variar de 1%-14% (Nakazato et al. 2000, Lemos 2005) e a letalidade de 43% a 100% (Lemos 2005), dependendo da resposta ao tratamento.

Não houve preferência por raça ou sexo. O fato de um maior número de bovinos sem raça definida e Nelore ser afetado respectivamente no RS e Centro-Oeste, deve-se a essa raça ou mistura de raças predominarem nas duas populações estudadas. Fato semelhante ocorreu na descrição original de PEM (Jensen et al. 1956) em que 66,36% dos bovinos afetados eram da Hereford, uma raça predominante nos confinamentos daquela região dos Estados Unidos. Os bovinos afetados por PEM no presente estudo dividiram-se igualmente entre machos e fêmeas.

Nos 13 casos de PEM diagnosticados no RS, dez bovinos eram oriundos da Região central do Estado, dois bovinos eram provenientes da região Oeste e um da Nordeste. É muito provável que esse fato se deva à proximidade do LPV/UFSM com as propriedades rurais da região Central e não a uma tendência de uma maior incidência em uma determinada região do Estado. PEM já foi diagnosticada em bovinos em outras regiões do RS, como a Central (Santos et al. 1983, Sanches et al. 2000), Sul (Riet-Correa et al. 1998, Motta et al. 1999, Schild et al. 2005), Campanha Meridional (Santos et al. 1983) e metropolitana de Porto Alegre (Traverso et al. 2001, Guagnini

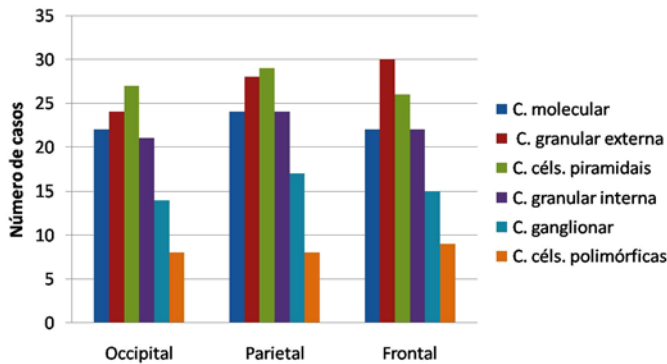


Fig.9. Distribuição de necrose neuronal (neurônios vermelhos) nas lâminas de neurônios do córtex occipital, parietal e frontal em 31 casos de polioencefalomalacia em bovinos. C = camada; C céls. = camada de células.

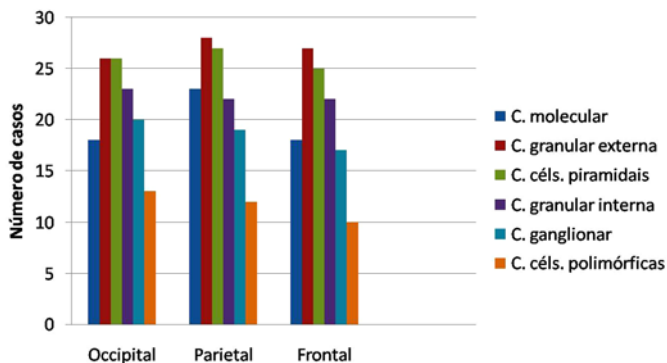


Fig.10. Distribuição de edema no córtex occipital, parietal e frontal em 31 casos de polioencefalomalacia em bovinos. C = camada; C céls. = camada de células.

et al. 2005). Os casos de PEM do Mato Grosso do Sul (MS) descritos neste estudo ocorreram em maior número na região Central do estado, mas também em outras regiões como a Sul, Norte e no Pantanal. Dados semelhantes foram observados anteriormente (Purisco 1982, Nakazato et al. 2000, Lemos 2005). Os quatro casos de Mato Grosso (MT) ocorreram no Centro e Sudeste do estado e os dois casos de Goiás (GO) ocorreram nas regiões Central e Sudeste. Apenas um surto da enfermidade havia sido descrito anteriormente em MT, mas a região de ocorrência não foi mencionada (Grecco et al. 2001) e casos de PEM já foram relatados em bovinos na região central de Goiás (Miguel et al. 2005). Esses números, tanto do nosso estudo, quanto de estudos anteriores, ainda são demasiadamente exíguos para se prestarem a qualquer conclusão quanto à incidência geográfica, mas estudos nesse sentido deveriam ser incrementados em todo o país porque a maior ocorrência de casos em uma determinada região poderia estar associada a um fator (ou fatores) ambiental (por ex., excesso de enxofre na água, planta fixadora de enxofre) como já foi determinado em outros estudos nos Estados Unidos (Bulgin et al. 1996, Gould et al. 2002) e na Nova Zelândia (Hill & Ebbett 1997).

Os casos de PEM diagnosticados no RS e no Centro-Oeste apresentam diferenças quanto à faixa etária dos animais afetados: a maioria dos casos diagnosticados no RS ocorreu em bovinos jovens (um ano de idade ou menos), enquanto no Centro-Oeste prevaleceram os casos em bovinos adultos. Em ambas as regiões estudadas, o principal sistema de criação foi o extensivo, com exceção de dois casos do RS os animais eram semi-confinados. Embora, em muitos países, casos de PEM ocorram esporadicamente em bovinos jovens confinados (Jensen et al. 1956, Harries 1987, Gooneratne et al. 1989, Niles et al. 2000, Radostits et al. 2007), no Brasil e no Uruguai os casos frequentemente são descritos em bovinos adultos criados extensivamente (Ferreira et al. 1986, Moro et al. 1994, Motta et al. 1999, Nakazato et al. 2000, Grecco et al. 2001, Miguel et al. 2005, Riet-Correa et al. 2007, Vieira et al., 2007), indicando que algum fator ou fatores diferentes participam da patogênese da doença nesses locais.

Surtos de PEM ocorrem após mudança brusca na alimentação de ruminantes quando da troca de pastagem ruim para outra de excelente qualidade, sem prévia adaptação da microbiota ruminal (Jensen et al. 1956, Moro et al. 1994). Isso pode ter ocorrido em três bovinos deste estudo que foram transferidos entre propriedades, dias antes de desenvolverem PEM; ocorrência semelhante havia sido observada em dois surtos da doença em bovinos no agreste de Pernambuco (Vieira et al. 2007). Em uma propriedade do Rio Grande do Sul, a doença ocorreu em animais em criação semi-intensiva, em condições de manejo semelhantes às descritas por outros autores como associadas à doença (Niles et al. 2000, Gonçalves et al. 2001, Traverso et al. 2001) e um outro bovino apresentou PEM após ter sido colocado em um pasto recentemente adubado com uréia. Não há informações na lite-

ratura da relação da doença em bovinos com a intoxicação por uréia, embora encefalomalacia tenha sido descrita em suínos alimentados com ração com 15 % de uréia (Radostits et al. 2007).

A doença ocorreu em praticamente todos os meses do ano nas duas regiões estudadas, não apresentando sazonalidade, semelhante ao observado por outros autores (Gabbedy & Richards 1977, Nakazato et al. 2000, Vieira et al. 2007). No entanto, são descritos surtos de PEM em MS (Purisco 1982) especialmente no período de seca da região (junho a setembro), e a ocorrência dos casos é associada à ingestão de cadáveres e carência de pastagens. Na Turquia, 256 casos de PEM associada à ingestão de brotos de cevada, ricos em enxofre, foram observados em bovinos de corte e de leite nos meses de agosto, outubro e dezembro (Kul et al. 2006). Em 111 casos da doença descritos nos EUA (Jensen et al. 1956) dois tipos de sazonalidade foram descritos: bovinos criados intensivamente, eram afetados no inverno (janeiro) e bovinos criados extensivamente eram afetados no verão (julho).

No presente estudo, os baixos índices de morbidade e mortalidade e o alto índice de letalidade foram semelhantes aos observados em outros trabalhos de PEM em bovinos (Gooneratne et al. 1989, Riet-Correa et al. 1998, Motta et al. 1999, Nakazato et al. 2000, Traverso et al. 2001, Haydock 2003, Kul et al. 2006). Dos 20 casos onde foi possível determinar o índice de letalidade, em 14 esse índice foi de 100%. Tanto nos casos do RS, quanto nos do Centro-Oeste, a doença foi observada na forma de surtos (15 casos) ou como casos isolados (8 casos). Em alguns relatos de PEM associados às intoxicações por enxofre (Dickie et al. 1979, Hamlem et al. 1993, Jeffrey et al. 1994, Hill & Ebbett 1997) ou por sal com privação de água (Lindley 1977, Trueman & Clague 1978), os índices de morbidade foram superiores aos do presente trabalho, demonstrando que a causa específica interfere na epidemiologia da doença.

Os sinais clínicos apresentados pelos bovinos deste estudo foram semelhantes aos relatados em outras descrições de PEM em bovinos (Nakazato et al. 2000, Gonçalves et al. 2001, Vieira et al. 2007). Em bovinos intoxicados por sal associado à privação de água no Uruguai, o quadro clínico incluiu sinais nervosos, cegueira, depressão e enoftalmia (Riet-Correa et al. 2007). Alguns bovinos do presente estudo apresentaram sinais nervosos causados por compressão do tronco encefálico, como nistagmo, ataxia, diminuição do tônus da língua e estrabismo e por compressão do cerebelo, como opistótono. Foram observados quadros clínicos agudos com duração de poucas horas até quadros subagudos com oito dias de duração; no entanto, o curso clínico da maioria dos casos variou de dois a quatro dias. Relatos da ocorrência de PEM em bovinos de São Paulo (Gonçalves et al. 2001), dão conta de um curso clínico mais longo, que variou de dois a 25 dias (média de 12 dias).

As alterações macroscópicas observadas no encéfalo

dos bovinos afetados por PEM neste estudo foram muito semelhantes aos achados de outros autores (Jensen et al. 1956, Ferreira et al. 1986, Moro et al. 1994, Nakazato et al. 2000). Em onze casos não foram observadas lesões macroscópicas. Isso provavelmente está relacionado a casos com curso clínico agudo em que as lesões não se desenvolveram a ponto de serem observadas na macroscopia, ou se desenvolveram a um ponto que, embora possíveis de serem observadas, são facilmente negligenciáveis. Os achados de necropsia variam de acordo com a severidade e a duração do curso clínico (Lemos & Riet-Correa 2007). Em caso onde as lesões macroscópicas são difíceis de discernir, o exame macroscópico sob aplicação pela lâmpada de Wood é recomendado (Jackman & Edwin 1983). Em dois casos havia hemorragias no tronco encefálico e no cerebelo associadas à herniação do cerebelo pelo forame magno. Achados semelhantes foram encontrados em bovinos intoxicados por enxofre (Loneragan et al. 1998). Em outros casos de PEM, também associados à intoxicação por enxofre (Hamlem et al. 1993), hemorragias bilaterais e extensas envolviam núcleos basais, tálamo, mesencéfalo (colículos rostrais e caudais) e bulbo. Em ovinos, hemorragias são descritas com maior frequência e intensidade nas lesões de PEM causadas pela intoxicação por amprólio (Morgan 1974, Lemos 2008).

As alterações microscópicas são qualitativamente semelhantes às descritas em várias publicações anteriores (Jensen et al. 1956, Jeffrey et al. 1994, Nakazato et al. 2000, Barros et al. 2006, Riet-Correa et al. 2007). Em todos os casos, as alterações histológicas predominaram no córtex telencefálico, mas em alguns casos, lesões de menor intensidade foram também observadas no mesencéfalo, tálamo, núcleos basais, hipocampo e cerebelo. Lesões semelhantes às descritas aqui foram observadas em casos de PEM causada por intoxicação por enxofre (Hamlem et al. 1993, Jeffrey et al. 1994, Low et al. 1996, Loneragan et al. 1998). Em bovinos intoxicados naturalmente por enxofre, hemorragias focais no tálamo e mesencéfalo ocorreram secundárias a degeneração de veias e vênulas (Loneragan et al. 1998) e necrose fibrinóide de pequenas arteríolas foi descrita no tálamo (Hamlem et al. 1993) e mesencéfalo (Hamlem et al. 1993, Hill & Ebbett 1997). Esse quadro é considerado uma forma mais grave da doença associada ao consumo excessivo de enxofre (Gould 2000). Alguns autores sugerem que nos casos de PEM em que há necrose neuronal cortical associada a lesões em estruturas mais ventrais do encéfalo, o quadro é sugestivo de toxicose por enxofre, permitindo a diferenciação da PEM relacionada à deficiência de tiamina (Jeffrey et al. 1994, Low et al. 1996). Levando esses dados em consideração, é possível que alguns dos casos descritos neste trabalho estejam associados à intoxicação por enxofre, embora essa hipótese não tenha sido confirmada laboratorialmente. Malacia no cerebelo, como a encontrada em casos deste estudo, ocorre em alguns casos de PEM, provavelmente em fun-

ção de forças exercidas sobre o cerebelo durante a herniação pelo forame magno (Morgan 1974, Lima et al. 2005, Lemos & Riet-Correa 2007).

A necrose neuronal e o edema (espongioso) foram mais acentuados nas camadas granular externa e interna do córtex occipital, parietal e frontal. Na PEM associada à intoxicação por enxofre em bovinos, a necrose predominante nas camadas corticais superiores e médias de neurônios piramidais (Hamlem et al. 1993, Jeffrey et al. 1994) e a espongiose ocorre especialmente nas camadas profundas (Gould 2000). Já em ovinos intoxicados experimentalmente por amprólio e naturalmente por enxofre, as lesões de PEM ocorrem homoganeamente entre as camadas de neurônios corticais (Morgan 1974, Bulgin et al. 1996, Low et al. 1996) ou afetam as camadas corticais mais profundas (Bulgin et al. 1996). No presente trabalho, as alterações histológicas foram observadas tanto nos giros quanto nos sulcos. Essa distribuição já havia sido descrita em relação a PEM (Morgan 1974). Entretanto, em alguns casos de intoxicação por chumbo em bovinos, a necrose neuronal é descrita especificamente nos giros (Christian & Tryphonas 1971, Krametter-Froetscher et al. 2007) e afetando principalmente o telencefalo occipital (Christian & Tryphonas 1971). Essa distribuição pode auxiliar no diagnóstico diferencial entre essas duas causas de PEM.

Astrócitos Alzheimer tipo II são classicamente encontrados no encéfalo em casos de encefalopatia hepática ou renal (Summers et al. 1995). Embora não seja um achado histológico comum nos casos de PEM, no presente trabalho, essas células foram observadas em alguns casos na substância cinzenta dos telencefalos associadas à necrose neuronal e espongiose do neurópilo. Na encefalopatia hepática, os astrócitos Alzheimer tipo II formam-se em resposta à ação da amônia e de outras toxinas ao sistema nervoso central (Norenberg 1987). Na necrose neuronal, por não possuírem alguns receptores membrana-específicos, os astrócitos são mais resistentes que os neurônios aos efeitos deletérios da ação de neurotransmissores aminoácidos excitatórios (Farooqui & Horrocks 1991). Assim, pode haver acúmulo astrocitário de ácido láctico e diminuição do pH intracelular, o que resulta em tumefação celular (Staub et al. 1990). Nenhuma patogênese foi ainda proposta até o momento para a formação dos astrócitos Alzheimer tipo II na PEM.

Em poucos casos havia leve infiltrado inflamatório perivascular de células mononucleares. Esse aspecto histológico da PEM estar associada à ausência de células inflamatórias ou a um infiltrado inflamatório leve é um achado importante no diagnóstico diferencial entre as formas não-infecciosas de PEM e PEM causada pela infecção pelo herpesvírus bovino (BoHV), uma vez que nas duas enfermidades ocorrem lesões macro e microscópicas semelhantes e que na infecção por BoHV a inflamação geralmente é moderada ou acentuada, especialmente nos lobos frontais (Rissi et al. 2006, Rissi et al. 2008). No presente trabalho, infiltrados leves de neutrófilos e eosinófi-

los foram encontrados em alguns casos. A presença de eosinófilos no espaço perivasculoso é bem caracterizada na intoxicação por sal em suínos (Summers et al. 1995). Em outras espécies, essa célula tem sido observada esporadicamente, como na intoxicação por chumbo em bovinos (Christian & Tryphonas 1971). Porém, em descrições de intoxicação por sal em bovinos e ovinos, não há infiltrado de eosinófilos nas lesões de PEM (Trueman & Clague 1978, Scarratt et al. 1985). Alterações histológicas avançadas de PEM como neuronofagia e lesão residual não foram observadas no presente trabalho. No entanto, essas lesões são descritas com frequência associada à infecção por BoHV em bovinos (Rissi et al. 2006, Rissi et al. 2008).

## REFERÊNCIAS

- Anderton N., Cockrum P.A., Walker D.W. & Edgar J.A. 1994. Identification of a toxin suspected of causing death in livestock grazing *Phalaris* pastures, p.269-274. In: Colegate S.M. & Dorling P.R. (Eds), Plant-Associated Toxins: Agricultural, phytochemical and ecological aspects. CAB International, Farnham Royal, Slough, UK. 596p.
- Barros C.S.L., Driemeier D., Dutra I.S. & Lemos R.A.A. 2006. Doenças do Sistema Nervoso de Bovinos no Brasil. Agnes, São Paulo, p.166-171.
- Bulgin M.S., Lincoln S.D. & Mather G. 1996. Elemental sulfur toxicosis in a flock of sheep. J. Am. Vet. Med. Assoc. 208:1063-1065.
- Carrillo B.J., Ambrogio A., Schudel A.A., Vazquez M., Dahme E. & Pospischil A. 1983a. Meningoencephalitis caused by IBR virus in calves in Argentina. Zentralbl. Veterinärmed. Reihe B 30:327-332.
- Carrillo B.J., Pospischil A. & Dahme E. 1983b. Pathology of a bovine necrotizing encephalitis in Argentina. Zentralbl. Veterinärmed. Reihe B 30:161-168.
- Christian R.G. & Tryphonas L. 1971. Lead poisoning in cattle: Brain lesions and hematologic changes. Am. J. Vet. Res. 32:203-216.
- Colodel E.M., Loretta A.P., Cruz C.E.F. & Driemeier D. 1998. Polioencefalomalacia em caprinos associada à ingestão dos frutos de *Hovenia dulcis* ("uva-do-japão"). Boletim do Laboratório Regional de Diagnóstico, Pelotas, 25:35-42.
- David N., Hübner S.O., Riet-Correa F., Halfen D. & Lemos R.A.A. 2007. Reactivation of latent bovine herpesvirus type 5 in cattle with polioencefalomalacia induced by ammonium sulphate. Pesq. Vet. Bras. 27:435-441.
- Dickie C.W., Nelson R.J., Frazee D.G., Krugman L.D. & Bronner E. 1979. Polioencefalomalacia in range cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 175:460-462.
- Edwin E.E., Markson L.M., Shreeve J. Jackman R. & Carrol P.J. 1979. Diagnostic aspects of cerebrocortical necrosis. Vet. Rec. 104:4-8.
- Farooqui A.A. & Horrocks L.A. 1991. Excitatory amino acid receptors, neural membrane phospholipid metabolism and neurological disorders. Brain Res. Rev. 16:171-191.
- Ferreira F.A., Coelho H.E. & Bastos J.E.D. 1986. Polioencefalomalácia em bovinos no estado de Minas Gerais. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 38:693-700.
- Gabbedy B.J. & Richards R.B. 1977. Polioencefalomalacia of sheep and cattle. Aust. Vet. J. 53:37-38.
- Gonçalves R.C., Viana L., Sequeira J.L., Bandarra E.P., Chiacchio S.B. & Kuchembuck M.R.G. 2001. Aspectos clínicos, anatomopatológicos e epidemiológicos da polioencefalomalácia em bovinos, na região de Botucatu, SP. Veterinária Notícias 7:53-57.
- Gooneratne S.R., Olkowski A.A., Klemmer R.G., Kessler G.A. & Christensen D.A. 1989. High sulfur related thiamine deficiency in cattle: a field study. Can. Vet. J. 30:139-146.
- Gould D.H. 1998. Polioencefalomalacia. J. Anim. Sci. 76:309-314.
- Gould D.H. 2000. Update on sulfur-related polioencefalomalacia. Vet. Clin. North Am., Food Anim.Pract. 16:481-496.
- Gould D.H., Dargatz D.A., Garry F.B., Hamar D.W. & Ross P.F. 2002. Potentially hazardous sulfur conditions on beef cattle ranches in the United States. J. Am. Vet. Med. Assoc. 221:673-677.
- Grecco F.B., Schein F. & Dantas A.F.M. 2001. Polioencefalomalacia em bovinos no Estado de Mato Grosso. 10º Enapave, Pirassununga, p.121. (Resumo)
- Guagnini F.S., Raymundo D.L., Borba M.R., Bandarra P.M., Leal J.S., Pedroso P.M.O., Seitz A.L., Colodel E.M. & Driemeier D. 2005. Diagnósticos de doenças do sistema nervoso central de bovinos, a partir da vigilância sanitária da encefalopatia espongiiforme transmissível no período de 2002 a 2004. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 57(Supl.1):73.
- Guimarães E.B., Lemos R.A.A., Nogueira A.P.A. & Souza A.C. 2008. Ocorrência natural de polioencefalomalacia em búfalos Murrah (*Bubalis bubalis*), mantidos em pastagem de gramínea consorciada com leguminosa em fase de rebrota, em MS. Encontro Nacional de Diagnóstico Veterinário, Campo Grande, MS, p.227-228.
- Hamlen H., Clark E. & Janzen E. 1993. Polioencefalomalacia in cattle consuming water with elevated sodium sulfate levels: a herd investigation. Can. Vet. J. 34:153-158.
- Harries N. 1987. Polioencefalomalacia in feedlot cattle drinking water high in sodium sulfate. Can. Vet. J. 28:717.
- Haydock D. 2003. Sulfur-induced polioencefalomalacia in a herd of rotationally grazed beef cattle. Can. Vet. J. 44:828-829.
- Hill F.I. & Ebbett P.C. 1997. Polioencefalomalacia in cattle in New Zealand fed chow moellier (*Brassica oleracea*). New Zealand Vet. J. 45:37-39.
- Innes J.R.M. & Saunders L.Z. 1962. Encephalomalacia and myelomalacia, p.607-609. In: \_\_\_\_ (Eds), Comparative Neuropathology. Academic Press, New York. 839p.
- Jackman R. & Edwin E.E. 1983. Cerebral autofluorescence and thiaminase deficiency in cerebrocortical necrosis. Vet. Rec. 112:548-550.
- Jeffrey M., Duff J.P., Higgins R.J., Simpson V.R., Jackman R., Jones T.O., Mechie S.C. & Liversey C.T. 1994. Polioencefalomalacia associated with the ingestion of ammonium sulphate by sheep and cattle. Vet. Rec. 134:343-348.
- Jensen R., Griner L.A. & Adams O.R. 1956. Polioencefalomalacia of cattle and sheep. J. Am. Vet. Med. Assoc. 129:311-321.
- Krametter-Froetscher R., Tataruch F., Hauser S., Leschnik M., Url A. & Baumgartner W. 2007. Toxic effects seen in a herd of beef cattle following exposure to ash residues contaminated by lead and mercury. Vet. J. 174:99-105.
- Kul O., Karahan S., Basalan M. & Kabakci N. 2006. Polioencefalomalacia in cattle: a consequence of prolonged feeding barley malt sprouts. J. Vet. Med. A 53:123-128.
- Lemos R.A.A. & Riet-Correa F. 2007. Polioencefalomalacia, p.658-670. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (Eds), Doenças de Ruminantes e Equídeos. Vol.2. 3ª ed. Pallotti, Santa Maria. 695p.
- Lemos R.A.A. 2005. Enfermidades do sistema nervoso de bovinos de corte das regiões Centro-Oeste e Sudeste do Brasil. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP. 150p.
- Lemos R.A.A. 2008. Comunicação pessoal (Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande).
- Lemos R.A.A., Driemeier D., Guimarães E.B., Dutra I.S., Mori A.E. & Barros C.S.L. 2004. Lead poisoning in cattle grazing pasture contaminated by industrial waste. Vet. Human Toxicol. 46:326-328.
- Lima E.F., Riet-Correa F., Tabosa I.M., Dantas A.F.M., Medeiros J.M. & Sucupira Júnior G. 2005. Polioencefalomalacia em caprinos e ovinos na região semi-árida do Nordeste do Brasil. Pesq. Vet. Bras. 25:9-14.

- Lindley W.H. 1977. Water deprivation in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 171:439-440.
- Linklater K.A., Dyson D.A. & Morgan K.T. 1977. Faecal thiaminase in clinically normal sheep associated with outbreaks of polioencefalomalacia. *Res. Vet. Sci.* 22:308-312.
- Loew F.M. & Dunlop R.H. 1972. Induction of thiamine inadequacy and polioencefalomalacia in adult sheep with amprolium. *Am. J. Vet. Res.* 33:2195-2205.
- Loneragan G.H., Gould D.H., Callan R.J., Sigurdson C.J. & Hamar D.W. 1998. Association of excess sulfur intake and an increase in hydrogen sulfide concentrations in the ruminal gas cap of recently weaned beef calves with polioencefalomalacia. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 213:1599-1604.
- Low J.C., Scott P.R., Howie F., Lewis M., FitzSimons J. & Spence J.A. 1996. Sulphur-induced polioencefalomalacia in lambs. *Vet. Rec.* 138:327-329.
- Markson L.M., Lewis G., Terlecki S., Edwin E.E. & Ford J.E. 1972. The aetiology of cerebrocortical necrosis: the effects of administering antimetabolites of thiamine to preruminant calves. *Brit. Vet. J.* 128:488-499.
- Markson L.M., Edwin E.E., Lewis G. & Richardson C. 1974. The production of cerebrocortical necrosis in ruminant calves by the intraruminal administration of amprolium. *Brit. Vet. J.* 130:9-16.
- Mella C.M., Perez-Oliva O. & Loew F.M. 1976. Induction of bovine polioencefalomalacia with a feeding system based on molasses and urea. *Can. J. Comp. Med.* 40:104-110.
- Miguel M.P., Souza M.A., Brum K.B., Jorge P.H.C., Porto R.R.N.G. & Brito L.A.B. 2005. Frequência de casos de polioencefalomalacia em bovinos encaminhados ao Setor de Patologia Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás – UFG no período de jan/2003 a mar/2005. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 57(Supl.1):72.
- Morgan K.T. 1974. Amprolium poisoning of preruminant lambs: An ultrastructural study of the cerebral malacia and the nature of the inflammatory response. *J. Pathol.* 112:229-236.
- Moro L., Nogueira R.H.G., Carvalho A.U. & Marques D.C. 1994. Relato de três casos de polioencefalomalacia em bovinos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 46:409-416.
- Motta A., Raffi M.B., Grecco F., Stigger A.L. & Raposo J.B. 1999. Polioencefalomalácia em bovinos. 9º Enapave, Belo Horizonte, p.50. (Resumo)
- Nakazato L., Lemos R.A.A. & Riet-Correa F. 2000. Polioencefalomalacia em bovinos nos estados de Mato Grosso do Sul e São Paulo. *Pesq. Vet. Bras.* 20:119-125.
- Nascimento I.A., Afonso J.A.B., Tokarnia C.H., Mendonça C.L., Costa N.A., Souza M.I., Oliveira L.G.L., Vieira A.C.S. & Pereira A.L.P. 2003. Polioencefalomalacia em ovinos: Relato de caso. V Congresso Pernambucano de Medicina Veterinária, Recife, s.p.
- Niles G.A., Morgan S.E. & Edwards W.C. 2000. Sulfur-induced polioencefalomalacia in stocker calves. *Vet. Human Toxicol.* 42:290-291.
- Norenberg M.D. 1987. The role of astrocytes in hepatic encephalopathy. *Neurochem. Pathol.* 6:13-33.
- Priester W.A. & Hayes H.M. 1974. Lead poisoning in cattle, horses, cats, and dogs as reported by all Colleges of Veterinary Medicine in the United States and Canada from July 1968, through June 1972. *Am. J. Vet. Res.* 35:567-569.
- Pritchard D. & Eggleston G.W. 1978. Nardoo fern and polioencefalomalacia. *Aust. Vet. J.* 54:204-205.
- Purisco E. 1982. Ocorrência de polioencefalomalácia em bovinos no Estado de Mato Grosso do Sul. Monografia. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS. 24p.
- Radostits O.M., Gay C.C., Hinchcliff K.W. & Constable P.D. 2007. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats.* 10<sup>th</sup> ed. Saunders Elsevier, Edinburgh, p.2006-2012.
- Ramos J.J., Ferrer L.M., García L., Fernández A. & Loste A. 2005. Polioencefalomalacia in adult sheep grazing pastures with prostate pigweed. *Can. Vet. J.* 46:59-61.
- Riet-Correa F., Ferreira J.L.M., Schild A.L. & Méndez M.C. 1998. Polioencefalomalacia em bovinos. Boletim do Laboratório Regional de Diagnóstico, Pelotas, 18:19-21.
- Riet-Correa F., Rivero R., Dutra F., Lemos R.A.A. & Easton C. 2007. Polioencefalomalacia. 35ª Jornadas Uruguayas de Buiatria, p.191-198.
- Rissi D.R., Oliveira, F.N., Rech R.R., Pierezan F., Lemos R.A.A. & Barros C.S.L. 2006. Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. *Pesq. Vet. Bras.* 26:123-132.
- Rissi D.R., Pierezan F., Silva M.S., Flores E.F. & Barros C.S.L. 2008. Neurological disease in cattle in southern Brazil associated with *Bovine herpesvirus* infection. *J. Vet. Diagn. Invest.* 20:346-349.
- Sanches A.W.D., Langohr I.M., Stigger A.L. & Barros C.S.L. 2000. Doenças do sistema nervoso central em bovinos no Sul do Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 20:113-118.
- Santos M.N., Jardim Filho J.O. & Grandó F.A. 1983. Polioencefalomalácia em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 3:37-39.
- Scarratt W.K., Collins T.J. & Sponenberg D.P. 1985. Water deprivation-sodium chloride intoxication in a group of feeder lambs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 186:977-978.
- Schild A.L., Ferreira J.L.M. & Soares M.P. 2005. Polioencefalomalácia em bovinos. Boletim do Laboratório Regional de Diagnóstico, Pelotas, 25:32-34.
- Staub F., Baethmann A., Peters J., Weigt H. & Kempfski O. 1990. Effects of lactacidosis on glial cell volume and viability. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 10:866-876.
- Summers B.A., Cummings J.F. & De Lahunta A. 1995. *Veterinary Neuropathology*, Mosby, St Louis. 527p.
- Traverso S.D., Colodel E.M., Loretti A.P., Seitz A.L., Correa A.M., Krauspenhar C. & Driemeier D. 2001. Polioencefalomalacia em bovinos leiteiros no Rio Grande do Sul suplementados com enxofre. 10º Enapave, Pirassununga, p.72. (Resumo)
- Traverso S.D., Loretti A.P., Donini M.A. & Driemeier D. 2004. Lead poisoning in cattle in southern Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 56:418-421.
- Trueman K.F. & Clague D.C. 1978. Sodium chloride poisoning in cattle. *Aust. Vet. J.* 54:89-91.
- Vieira A.C.S., Afonso J.A.B., Tokarnia C.H., Costa N.A., Mendonça C.L. & Souza M.I. 2007. Estudo epidemiológico, clínico e patológico em ruminantes com polioencefalomalácia no agreste meridional de Pernambuco. *Revta Bras. Med. Vet.* 29:65-68.



## 4 TRABALHO 2

### POLIOENCEFALOMALACIA EXPERIMENTAL INDUZIDA POR AMPRÓLIO EM OVINOS

Fabiano J.F. de Sant'Ana, Ana Paula A. Nogueira, Roosevelt I.C. Souza, Suzamar G. Cardinal,  
Ricardo A.A. Lemos e Claudio S.L.Barros

PUBLICADO NO V. 29, N.9, P. 747-752

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

## Polioencefalomalacia experimental induzida por amprólio em ovinos<sup>1</sup>

Fabiano J.F. de Sant'Ana<sup>2</sup>, Ana Paula A. Nogueira<sup>3</sup>, Roosevelt I.C. Souza<sup>3</sup>, Suzamar G. Cardinal<sup>3</sup>, Ricardo A.A. Lemos<sup>4</sup> e Claudio S.L. Barros<sup>5\*</sup>

**ABSTRACT.-** Sant'Ana F.J.F., Nogueira A.P.A., Souza R.I.C., Cardinal S.G., Lemos R.A.A. & Barros C.S.L. 2009. [Experimentally amprolium-induced polioencephalomalacia in sheep.] Polioencefalomalacia experimental induzida por amprólio em ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 29(9):747-752. Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil. E-mail: [claudioslbarros@uol.com.br](mailto:claudioslbarros@uol.com.br)

In order to establish an experimental model for the study of the etiology, pathology, and pathogenesis of polioencephalomalacia in ruminants, the condition was induced in five sheep by oral administration of amprolium at daily doses of 500 and 1,000mg per kg of body weight respectively for 28-59 days and for 13-39 days. All sheep died or were euthanized *in extremis* after illness of 3-7 days. Clinical signs included depression, incoordination, midriasis, grinding of the teeth, blindness, and laying down with opisthotonus and paddling movements. Drooling and a sawhorse stance were observed in one sheep and myoclonus in another one. Main gross lesions were restricted to the central nervous system and included swelling of the brain with flattening of telencephalic gyri, and hemorrhages in the parietal and occipital lobes of the telencephalon, in the submeningeal areas of the spinal cord and in the mesencephalon. Histologically, there was segmental laminar neuronal necrosis (red neurons) associated with edema, swelling of endothelial cells, hemorrhages and infiltration by foamy macrophages (*gitter* cells). These changes were more marked in the frontal, parietal and occipital telencephalic lobes and there was sharp demarcation between the lesions and the adjacent normal neuropile. Additionally, similar, but less marked lesions were seen in the mesencephalon, thalamus and hippocampus. Considering the consistent reproducible aspects of polioencephalomalacia in sheep using amprolium, this may be an useful model for the study of the disease.

**INDEX TERMS:** Diseases of sheep, neuropathology, amprolium, polioencephalomalacia, experimental model.

<sup>1</sup> Recebido em 24 de abril de 2009.

Aceito para publicação em 26 de maio de 2009.

Parte da tese de Doutorado do primeiro autor. Trabalho financiado pela Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (Fundect), Edital Universal 07/2007.

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Patologia Veterinária, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS 97105-900, Brasil. Bolsista do CNPq.

<sup>3</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Av. Filinto Müller s/n, Cidade Universitária, Campo Grande, MS 79070-900, Brasil.

<sup>4</sup> Depto Medicina Veterinária, FAMEZ, UFMS, Campo Grande, MS.

<sup>5</sup> Departamento de Patologia, UFSM, Santa Maria, RS. Pesquisador 1-A do CNPq (Proc.307876/2006-3). \*Autor para correspondência: [claudioslbarros@uol.com.br](mailto:claudioslbarros@uol.com.br)

**RESUMO.-** Para estabelecer um modelo experimental para o estudo da etiologia, patologia e patogênese da polioencefalomalacia em ruminantes, a condição foi induzida em cinco ovinos pela administração oral de amprólio nas doses diárias de 500 e 1.000mg/kg de peso animal, respectivamente por 28-59 dias e 13-39 dias. Todos os ovinos morreram ou foram eutanasiados *in extremis* após um curso clínico de 3-7 dias. Os sinais clínicos incluíam depressão, incoordenação, midríase, bruxismo, cegueira e decúbito com opistótono e movimentos de pedalagem. Salivação excessiva e posição de cavalete foi observada em um ovino e mioclonias em um outro. Os principais achados de necropsia restringiam-se ao sistema nervoso central e incluíam tumefação do encéfalo com achatamento dos giros telencefálicos e hemorragias nos lobos parietal

e occipital do telencéfalo; as hemorragias ocorriam também nas áreas submeníngeas da medula espinhal e do mesencéfalo. Histologicamente, havia necrose segmentar laminar de neurônios (neurônios vermelhos) associada a edema, tumefação de células endoteliais, hemorragias e infiltração por macrófagos espumosos (células *gitter*). Essas alterações eram mais marcadas nos lobos frontal, parietal e occipital do telencéfalo e havia uma demarcação abrupta entre as lesões e o neurópilo normal adjacente. Adicionalmente, lesões semelhantes, mas menos acentuadas, eram observadas no mesencéfalo, tálamo e hipocampo. Levando em consideração a reprodutibilidade regular dos aspectos da polioencefalomalacia em ovinos pela administração de amprólio, esse modelo pode ser útil para o estudo da doença.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Doenças de ovinos, neuropatologia, amprólio, polioencefalomalacia, modelo experimental.

## INTRODUÇÃO

Polioencefalomalacia (PEM) é um diagnóstico morfológico para necrose com amolecimento (*malacia*) da substância cinzenta (*polio*) do encéfalo. A etiologia e patogênese da PEM em ruminantes ainda é controversa. Embora a PEM de ruminantes tenha sido atribuída inicialmente à deficiência de tiamina (Jensen et al. 1956), foi posteriormente observado que a condição pode ter outras causas, incluindo intoxicação por enxofre (Gould 2000), intoxicação por sal associada à privação de água (Lindley 1977), intoxicação por chumbo (Lemos et al. 2004), administração de determinados anti-helmínticos, como levamisole e tiabendazole (Linklater et al. 1977), administração de análogos da tiamina, como o amprólio (Markson et al. 1974), ingestão de melão - provavelmente associada à intoxicação por enxofre - (Mella et al. 1976), mudança brusca de pastos ruins para outros de ótima qualidade (Moro et al. 1994), ingestão de plantas ricas em tiaminases (Ramos et al. 2005), intoxicação por *Phalaris* spp. (Anderton et al. 1994) e infecção por herpesvírus bovino (Carrillo et al. 1983). Em algumas dessas situações, a participação da tiamina na patogênese da PEM pode ser questionada, uma vez que não há alterações nas concentrações sanguíneas dessa substância.

Para o estudo da patogênese da PEM dos ruminantes, é indicado o estabelecimento de um modelo experimental do qual se conheçam detalhadamente a dose do agente causador, a evolução dos sinais clínicos, o tipo e a distribuição das lesões no sistema nervoso central. Embora existam trabalhos que mencionam alguns aspectos neuropatológicos da intoxicação por amprólio em ruminantes (Loew & Dunlop, 1972, Markson et al. 1974, Morgan et al. 1975, Kasahara et al. 1989), pouco se conhece a respeito da caracterização morfológica das alterações produzidas por esse antagonista da tiamina, bem como sobre a distribuição dessas lesões no encéfalo.

O objetivo desse trabalho é descrever os achados clínicos e a distribuição das alterações no encé-

falo em ovinos intoxicados experimentalmente com amprólio.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados cinco ovinos mestiços, fêmeas, de seis meses de idade, com peso entre 18-29 kg que foram everminados e numerados de 1-6 antes do início do experimento (Quadro 1). Durante o período de adaptação de 15 dias e por todo o experimento os ovinos foram mantidos em baias descobertas de 5x2m e foram pesados ao início do experimento e a cada 15 dias. Diariamente era realizado exame físico visando principalmente a detecção de sinais clínicos neurológicos. Os ovinos receberam água a vontade e 2% do peso vivo em matéria seca na forma de feno de alfafa e ração comercial para ovinos.

Cinco ovinos receberam amprólio (Amprolbase [40% de amprólio])<sup>6</sup> nas dosagens de 500 mg/kg/dia (Grupo 1, Ovinos 1 e 2) e 1.000mg/kg/dia (Grupo 2, Ovinos 3-5) até a manifestação dos primeiros sinais clínicos neurológicos. O amprólio era pesado diariamente em balança de precisão e acondicionado em sacos plásticos individuais que eram identificados com o número do ovino que receberia aquela porção. A administração do produto era feita por via oral, através de ingestão forçada com uma seringa de 20mL, da qual foi cortada a parte anterior para facilitar a administração. Os ovinos morreram naturalmente (Ovinos 1, 4 e 5) ou foram submetidos à eutanásia *in extremis* (Ovinos 2 e 3). Todos os ovinos foram necropsiados.

O encéfalo juntamente com o complexo gânglio de Gasser, *rete mirabile* carotídea e hipófise (GRH), e fragmentos de diversos outros órgãos eram coletados e fixados em formol a 10%. Após a fixação, eram realizados cortes transversais no encéfalo com intervalos de 1cm para avaliação macroscópica. As seguintes seções eram preparadas para avaliação microscópica: cerebelo, bulbo na altura do óbex, ponte com pedúnculos cerebelares, mesencéfalo na altura dos cóliculos rostrais, tálamo, núcleos basais, hipocampo e lobos frontal, parietal e occipital do telencéfalo. Adicionalmente, o exame histológico era realizado em um monobloco do complexo GRH. Todos os fragmentos eram processados rotineiramente para histologia, incluídos em parafina e corados pela hematoxilina-eosina.

As alterações observadas no encéfalo foram graduadas de acordo com a intensidade numa escala de 0 (ausência de lesão) a 3 (lesão acentuada). Cada lesão tinha seu grau aferido de acordo com a média de percepção subjetiva de três patologistas que examinaram todos os casos. Foram avaliados o grau de intensidade e a distribuição nos diferentes locais examinados procurando-se pelas seguintes alterações histológicas: gliose focal, gliose difusa, tumefação de núcleos de células endoteliais, separação entre as substâncias cinzenta e branca, edema do neurópilo, congestão, hemorragia, necrose neuronal (caracterizada por picnose nuclear e eosinofilia e encarquilhamento citoplasmáticos), neuronofagia, malacia (o termo malacia foi empregado aqui significando necrose de todas as células neuroectodérmicas com manutenção das células mesenquimais (i.é, células *gitter*, células endoteliais) que sobrevivem e participam do processo (Innes & Saunders 1962), lesão residual (estrutura cavitária formada por pequenos vasos e numerosas células *gitter* remanescentes).

<sup>6</sup> Amprolbase, Laboratório Farmabase Saúde Animal, Av. Emílio Marconato 1000, Galpão A3, Chácara Primavera, Jaguariúna, SP 13820-000. [www.farmabase.com.br](http://www.farmabase.com.br)

tes) e infiltrado inflamatório perivascular e/ou meníngeo. A distribuição do edema e da necrose neuronal (neurônio vermelho) nas lâminas da substância cinzenta do telencéfalo era também determinada.

## RESULTADOS

Dos cinco ovinos que receberam amprólio, três morreram espontaneamente (Ovinos 1, 4 e 5) e outros dois foram eutanasiados *in extremis*. Os primeiros sinais clínicos surgiram 28-59 e 13-39 dias após a administração do amprólio nas dosagens de 500 e 1.000mg/kg, respectivamente (Quadro 1). A evolução clínica variou de 3-7 dias. Os sinais clínicos neurológicos eram consistentes em todos os casos e compreendiam prostração, incoordenação, midríase, bruxismo, cegueira, decúbito lateral, movimentos de pedalagem e opistótono (Fig. 1). Adicionalmente, um ovino manifestou sialorréia e assumiu posição de cavalete e outro apresentou mioclonias.

Macroscopicamente, as principais alterações eram restritas ao sistema nervoso central (Quadro 1) e incluíam tumefação do encéfalo com achatamento das circunvoluções (Fig. 2) nos Ovinos 1, 2, 4 e 5; áreas de hemorragia nos lobos parietal e occipital nos Ovinos 2 e 3, na região submeníngea da medula espinal cervical dos Ovinos 3 e 4 e no mesencéfalo do Ovino 2 (Fig. 3). Hemorragias eram também observadas no coração dos Ovinos 1 e 5 e no gânglio de Gasser do Ovino 1 e no



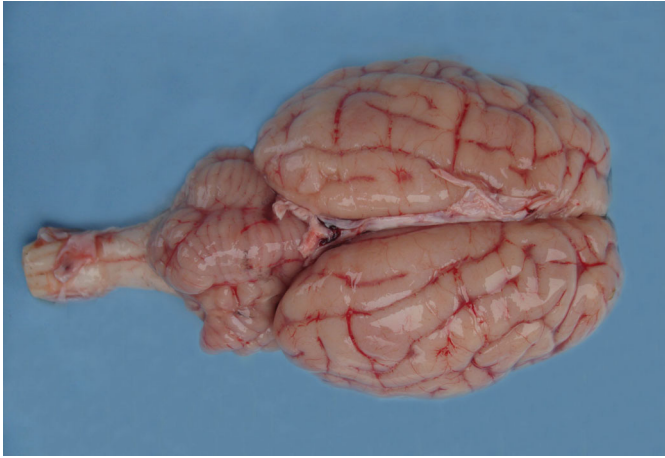
Fig. 1. Ovino 3 em opistótono na polioencefalomalacia induzida por amprólio.

fígado do Ovino 4; congestão e edema pulmonar acentuados ocorreram no Ovino 1.

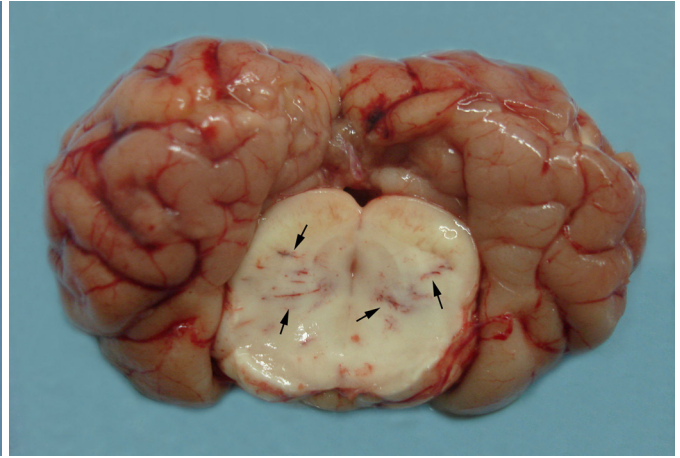
Lesões microscópicas incluíam necrose neuronal (neurônios vermelhos), segmentar e laminar, acompanhada de edema (Fig. 4), tumefação de núcleos das células endoteliais (Fig. 5), hemorragia (Fig. 6) e infiltrado de macrófagos espumosos (células *gitter*) (Fig. 7). Essas alterações foram mais acentuadas nos lobos frontal, parietal e occipital; o limite entre as lesões e a área adjacente nor-

Quadro 1. Polioencefalomalacia em ovinos intoxicados experimentalmente por amprólio

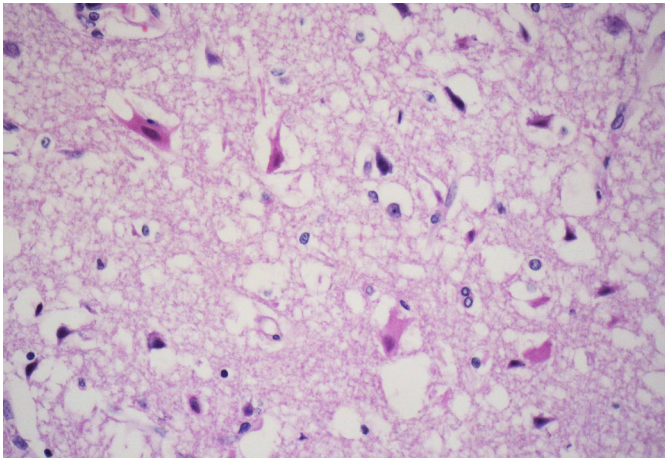
Ovino	Peso (kg)	Quantidade de amprólio administrado (mg/kg/dia)	Período de administração (dias)	Duração dos sinais clínicos (dias)	Sinais clínicos neurológicos	Achados de necropsia
1	28	500	28	7	Cegueira, prostração, bruxismo, incoordenação, decúbito lateral, opistótono, midríase e movimentos de pedalagem. Morte espontânea.	Congestão e edema pulmonar acentuados, hemorragias no coração (endocárdio, miocárdio e epicárdio), hemorragia no gânglio de Gasser, tumefação do encéfalo e achatamento das circunvoluções cerebrais.
2	27	500	59	6	Prostração, incoordenação, opistótono em estação, decúbito lateral, midríase, hiperexcitabilidade e bruxismo. Submetido à eutanásia.	Achatamento das circunvoluções cerebrais, superfície natural do telencéfalo com áreas multiocais amarelas; superfície de corte do mesencéfalo e do telencéfalos occipital e parietal com petéquias e equimoses multifocais.
3	23	1.000	13	3	Isolamento do grupo, prostração, decúbito esternal, incoordenação, decúbito lateral, opistótono, nistagmo, cegueira, paralisia de membros torácicos e pélvicos, estrabismo, midríase, movimentos de pedalagem. Submetido à eutanásia.	Hemorragia submeníngea nos lobos parietal e occipital esquerdos e na medula espinal cervical.
4	20	1.000	20	4	Depressão, incoordenação, cegueira, nistagmo, decúbito lateral, movimentos de pedalagem, opistótono. Morte espontânea.	Palidez de mucosas, petéquias no lobo acessório do fígado, tumefação do encéfalo, achatamento das circunvoluções cerebrais e hemorragias submeníngeas na medula espinal cervical.
5	18	1.000	39	4	Letargia, mioclonias, incoordenação, opistótono em estação, sialorréia, bruxismo, posição de cavalete, decúbito lateral, cegueira, respiração abdominal, movimentos de pedalagem. Morte espontânea.	Petéquias no epicárdio, tumefação do encéfalo e achatamento das circunvoluções cerebrais.



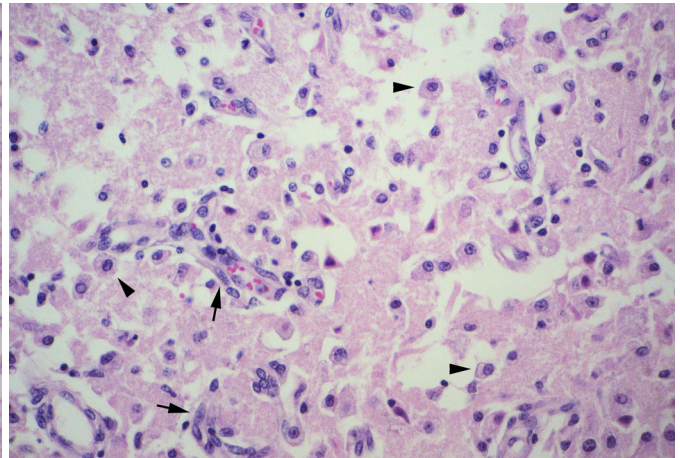
2



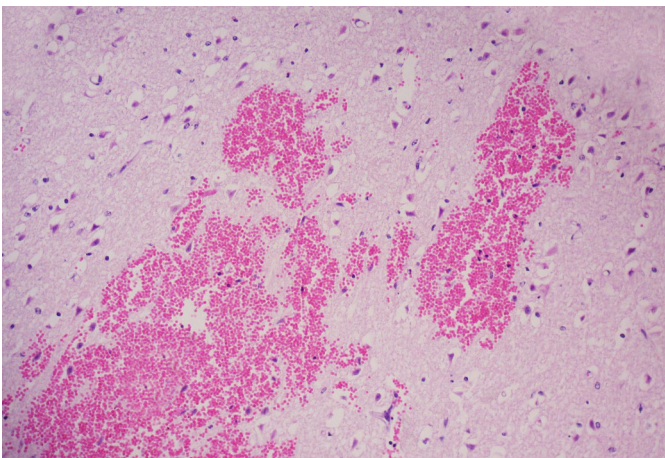
3



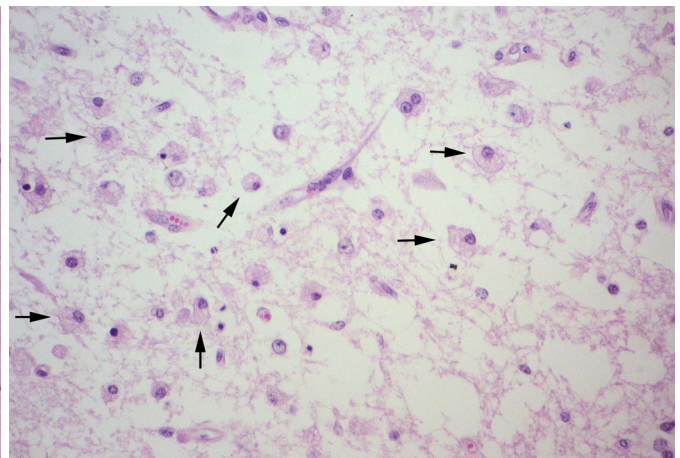
4



5



6



7

Fig. 2. Encéfalo do Ovino 1 com polioencefalomalacia induzida por amprólio. O encéfalo está tumefeito e há achatamento das circunvoluções.

Fig. 4. Córtex parietal do Ovino 3 com polioencefalomalacia induzida por amprólio. Há necrose de neurônios que têm o citoplasma acidofílico e núcleo picnótico (neurônios vermelhos). O neuropilo é frouxo e vacuolizado (edema). HE, obj.40x.

Fig. 6. Áreas de hemorragia no córtex parietal do Ovino 3 com polioencefalomalacia induzida por amprólio. HE, obj.20x.

Fig. 3. Encéfalo do Ovino 2 com polioencefalomalacia induzida por amprólio. Há hemorragias simétricas (setas) no mesencéfalo.

Fig. 5. Córtex frontal do Ovino 1 com polioencefalomalacia induzida por amprólio. Há tumefação das células endoteliais dos vasos (setas), neurônios necróticos (neurônios vermelhos), edema e células *gitter* (cabeças de seta). HE, obj.40x.

Fig. 7. Macrófagos espumosos (células *gitter*) (setas) no teto do mesencéfalo do Ovino 1 com polioencefalomalacia induzida por amprólio. HE, obj.40x.

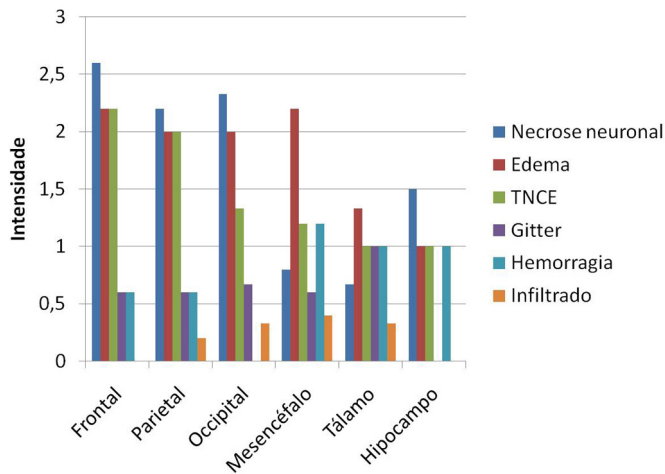


Fig.8. Tipo, distribuição e intensidade das lesões induzidas experimentalmente por amprólio no encéfalo de cinco ovinos. Os números que aparecem na ordenada referem-se a intensidade da lesão: 0 = ausência de lesão 1 = lesão leve; 2 = moderada; 3 = acentuada. Na abscissa estão os locais do cérebro (lobos frontal, parietal, occipital; mesencéfalo, tálamo, hipocampo) onde ocorriam as lesões.

mal era abrupto. Adicionalmente, lesões similares, moderadas ou acentuadas, mas com menor intensidade de necrose neuronal, eram encontradas no mesencéfalo, tálamo e hipocampo. A Figura 8 mostra a distribuição e intensidade dessas lesões. Em nenhum ovino foram observadas alterações histológicas no bulbo, na ponte e no complexo GRH. Apenas um ovino apresentou grau leve de tumefação de núcleos das células endoteliais nos núcleos basais. Não houve diferença de intensidade de lesões macro e microscópicas entre os dois grupos avaliados. Os neurônios necróticos eram caracterizados por encarquilhamento e hipereosinofilia do citoplasma, picnose nuclear sem evidência nucleolar e desaparecimento da substância de Nissl. Alguns núcleos de neurônios necróticos apresentavam aspecto vítreo. A necrose neuronal ocorreu tanto no topo quanto no sulco das circunvoluções cerebrais. O edema na substância cinzenta era acentuado e, em alguns casos, deixava o neurópilo com aspecto esponjoso; ocorria separando a substância cinzenta da branca ou entre camadas de neurônios da substância cinzenta. Em dois ovinos, havia manguitos perivascularares focais leves de linfócitos e macrófagos. Hemorragias multifocais e moderadas eram encontradas com frequência nas áreas de malacia nos telencéfalos, bem como no mesencéfalo, tálamo e hipocampo. Em nenhum caso foi observada neuronofagia nem lesão residual (cicatriz). Lesões no tronco encefálico ocorreram em todos os ovinos e eram leves ou moderadas e restritas ao teto do mesencéfalo; caracterizavam-se por áreas geralmente simétricas e bilaterais de necrose neuronal focal, edema do neurópilo, tumefação de núcleos de células endoteliais, hemorragias moderadas e ocasionais células *gitter*. No tálamo, as alterações eram semelhantes às do mesencéfalo, porém o edema era menos acentuado. A distribuição da necrose neuronal e do edema nas camadas de neurônios da substância cinzenta dos lobos fron-

tal, parietal e occipital do telencéfalo, não diferiu entre os ovinos, afetando uniformemente todas as camadas.

## DISCUSSÃO

No presente estudo foi constatado que a dosagem diária de 500mg/kg de amprólio é eficaz no desenvolvimento de PEM em ovinos e, que na dosagem de 1.000 mg/kg a doença ocorre precocemente, visto que o ovino 3 adoeceu no 13º dia de experimento. Entretanto, o tipo e a intensidade das lesões histológicas observadas nos dois grupos foram idênticas. Em outro trabalho com administração de 880mg/kg de amprólio à ovinos adultos, a doença foi reproduzida e os primeiros sinais clínicos surgiram com 37 dias (Loew & Dunlop 1972). Bezerros que receberam dieta com 1% de amprólio desenvolveram PEM com 25-39 dias de experimentação (Markson et al. 1974).

Os sinais clínicos apresentados pelos ovinos deste estudo estão associados às lesões corticais e ao edema que causou compressão do tronco encefálico e de outras estruturas ventrais do encéfalo e foram semelhantes aos relatados em outras descrições de PEM associada às intoxicações por amprólio (Loew & Dunlop 1972) e por enxofre (Rousseaux et al. 1991, McAllister et al. 1992, Jeffrey et al. 1994) em ovinos. Bradicardia e inatividade do rúmen também são descritas em alguns ovinos afetados pela doença (Loew & Dunlop 1972). Cordeiros pré-ruminantes intoxicados diariamente com 280mg/kg apresentaram diarreia mucoide esverdeada e epistaxe (Morgan et al. 1975). Adicionalmente, anorexia, diarreia, andar rígido, miose, espasmos clônicos e hipotermia foram observados em bezerros intoxicados experimentalmente por amprólio (Markson et al. 1974, Kasahara et al. 1989).

As alterações macroscópicas do encéfalo observadas neste estudo são semelhantes às descritas em outros trabalhos de PEM em ovinos (Morgan et al. 1975, Rousseaux et al. 1991). Em alguns casos de PEM nessa espécie, não são observadas lesões macroscópicas (Vieira et al. 2007). Áreas de hemorragia no encéfalo são relatadas em PEM associada às intoxicações por amprólio (Morgan 1974, Morgan et al. 1975) ou, ocasionalmente, na toxicose por enxofre (Hamlen et al. 1993). Essa alteração parece ser importante nesse tipo de PEM causada por excesso de amprólio, uma vez que não ocorre com frequência na doença associada a outras causas.

Embora as lesões histológicas tenham sido mais intensas nos lobos frontal, parietal e occipital, alterações moderadas a acentuadas também foram detectadas no tálamo, mesencéfalo e hipocampo. Esse tipo de lesão cortical e de estruturas mais ventrais do encéfalo com hemorragias é considerada uma forma grave da doença e tem sido observada na PEM em bovinos do Brasil (Sant'Ana et al. 2009) e de outros países associada ao consumo excessivo de enxofre (Hamlen et al. 1993, Hill & Ebbett 1997, Gould 2000). Entretanto, nesses casos causados por enxofre, há degeneração de veias e vênulas (Loneragan et al. 1998) e necrose fibrinóide de pequenas arteríolas no tálamo (Hamlen et al. 1993) e mesencéfalo

(Hamlen et al. 1993, Hill & Ebbett 1997), o que não foi observado na intoxicação por amprólio do presente estudo. Nos telencéfalos de casos experimentais deste trabalho, o limite entre a substância cinzenta afetada e a íntegra é abrupto, diferente do observado em casos naturais de PEM em bovinos (Sant'Ana et al. 2009). Não foram verificadas lesões no cerebelo dos ovinos. Em bovinos, alterações nessa estrutura geralmente ocorrem em função de pressão exercida durante a herniação pelo forame magno (Morgan 1974, Sant'Ana et al. 2009).

A necrose neuronal e o edema ocorreram homogeneamente entre as lâminas de neurônios do córtex telencefálico, semelhantemente ao observado em ovinos intoxicados experimentalmente por amprólio (Morgan 1974) e naturalmente por enxofre (Bulgin et al. 1996, Low et al. 1996). Em casos espontâneos em bovinos, as camadas granular externa e interna do córtex occipital, parietal e frontal foram mais afetadas por necrose de neurônios e edema (Sant'Ana et al. 2009). Na PEM associada à intoxicação por enxofre em bovinos, a necrose predomina nas camadas corticais superiores e médias de neurônios piramidais (Hamlen et al. 1993, Jeffrey et al. 1994) e a espongirose ocorre especialmente nas camadas profundas (Gould 2000).

O conhecimento das doses de amprólio necessárias para o estabelecimento de PEM em ovinos, a determinação dos sinais clínicos, da evolução da doença, do tipo e da distribuição das lesões no sistema nervoso central, permite estabelecer um modelo experimental em ovinos para o estudo da PEM em ruminantes.

## REFERÊNCIAS

- Anderton N., Cockrum P.A., Walker D.W. & Edgar J.A. 1994. Identification of a toxin suspected of causing death in livestock grazing *Phalaris* pastures, p.269-274. In: Colegate S.M. & Dorling P.R. (Eds), Plant-Associated Toxins. Agricultural, Phytochemical and Ecological Aspects. CAB International, Farnham Royal, Slough, UK.,596p.
- Bulgin M.S., Lincoln S.D. & Mather G. 1996. Elemental sulfur toxicosis in a flock of sheep. J. Am. Vet. Med. Assoc. 208:1063-1065.
- Carrillo B.J., Pospischil A. & Dahme E. 1983. Pathology of a bovine necrotizing encephalitis in Argentina. Zentralbl. Veterinärmed. Reihe B 30:161-168.
- Gould D.H. 2000. Update on sulfur-related polioencephalomalacia. Vet. Clin. North Am., Food Anim.Pract. 16:481-496.
- Hamlen H., Clark E. & Janzen E. 1993. Polioencephalomalacia in cattle consuming water with elevated sodium sulfate levels: A herd investigation. Can. Vet. J. 34:153-158.
- Hill F.I. & Ebbett P.C. 1997. Polioencephalomalacia in cattle in New Zealand fed chow moellier (*Brassica oleracea*). N. Z. Vet. J. 45:37-39.
- Innes J.R.M. & Saunders L.Z. 1962. Encephalomalacia and myelomalacia, p.607-609. In: Ibid. (Eds), Comparative Neuropathology. Academic Press, New York. 839p.
- Jeffrey M., Duff J.P., Higgins R.J., Simpson V.R., Jackman R., Jones T.O., Mechie S.C. & Liversey C.T. 1994. Polioencephalomalacia associated with the ingestion of ammonium sulphate by sheep and cattle. Vet. Rec. 134:343-348.
- Jensen R., Griner L.A. & Adams O.R. 1956. Polioencephalomalacia of cattle and sheep. J. Am. Vet. Med. Assoc. 129:311-321.
- Kasahara T., Ichijo S., Osame S. & Sarashina T. 1989. Clinical and biochemical findings in bovine cerebrocortical necrosis produced by oral administration of amprolium. Jpn. J. Vet. Sci. 51:79-85.
- Lemos R.A.A., Driemeier D., Guimarães E.B., Dutra I.S., Mori A.E. & Barros C.S.L. 2004. Lead poisoning in cattle grazing pasture contaminated by industrial waste. Vet. Human Toxicol. 46:326-328.
- Lindley W.H. 1977. Water deprivation in cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 171:439-440.
- Linklater K.A., Dyson D.A. & Morgan K.T. 1977. Faecal thiaminase in clinically normal sheep associated with outbreaks of polioencephalomalacia. Res. Vet. Sci. 22:308-312.
- Loew F.M. & Dunlop R.H. 1972. Induction of thiamine inadequacy and polioencephalomalacia in adult sheep with amprolium. Am. J. Vet. Res. 33:2195-2205.
- Loneragan G.H., Gould D.H., Callan R.J., Sigurdson C.J. & Hamar D.W. 1998. Association of excess sulfur intake and an increase in hydrogen sulfide concentrations in the ruminal gas cap of recently weaned beef calves with polioencephalomalacia. J. Am. Vet. Med. Assoc. 213:1599-1604.
- Low J.C., Scott P.R., Howie F., Lewis M., FitzSimons J. & Spence J.A. 1996. Sulphur-induced polioencephalomalacia in lambs. Vet. Rec. 138:327-329.
- McAllister M.M., Gould D.H. & Hamar D.W. 1992. Sulphide-induced polioencephalomalacia in lambs. J. Comp. Path. 106:267-278.
- Markson L.M., Edwin E.E., Lewis G. & Richardson C. 1974. The production of cerebrocortical necrosis in ruminant calves by the intraruminal administration of amprolium. Brit. Vet. J. 130:9-16.
- Mella C.M., Perez-Oliva O. & Loew F.M. 1976. Induction of bovine polioencephalomalacia with a feeding system based on molasses and urea. Can. J. Comp. Med. 40:104-110.
- Morgan K.T. 1974. Amprolium poisoning of preruminant lambs: An ultrastructural study of the cerebral malacia and the nature of the inflammatory response. J. Path. 112:229-236.
- Morgan K.T., Coop R.L. & Doxey D.L. 1975. Amprolium poisoning of preruminant lambs. An investigation of the encephalopathy and the haemorrhagic and diarrhoeic syndromes. J. Path. 116:73-81.
- Moro L., Nogueira R.H.G., Carvalho A.U. & Marques D.C. 1994. Relato de três casos de polioencefalomalácia em bovinos. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 46:409-416.
- Ramos J.J., Ferrer L.M., García L., Fernández A. & Loste A. 2005. Polioencephalomalacia in adult sheep grazing pastures with prostate pigweed. Can. Vet. J. 46:59-61.
- Rousseaux C.G., Olkowski A.A., Chauvet A., Gooneratne S.R. & Christenson D.A. 1991. Ovine polioencephalomalacia associated with dietary sulphur intake. J. Vet. Med. A 38:229-239.
- Sant'Ana F.J.F., Rissi D.R., Lucena R.B., Lemos R.A.A., Nogueira A.P.A. & Barros C.S.L. 2009. Polioencefalomalácia em bovinos: epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões no encéfalo. Pesq. Vet. Bras. 29:487-497.
- Vieira A.C.S., Afonso J.A.B., Tokarnia C.H., Costa N.A., Mendonça C.L. & Souza M.I. 2007. Estudo epidemiológico, clínico e patológico em ruminantes com polioencefalomalácia no agreste meridional de Pernambuco. Revta Bras. Med. Vet. 29:65-68.

## 5 PESQUISA DE ENXOFRE NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS AFETADOS POR POLIOENCEFALOMALACIA NO RIO GRANDE DO SUL (2007-2009)

Durante 2007-2009, foram acompanhados 16 casos de PEM em bovinos no Rio Grande do Sul. Quando havia disponibilização pelos proprietários, amostras de água, ração, feno ou pastagem eram obtidas com os tratadores ou com o veterinário responsável. Essas amostras foram usadas para pesquisa laboratorial de enxofre, uma vez que, em várias regiões do mundo, esse mineral é uma causa comum e importante de PEM em ruminantes (RAISBECK, 1982; HARRIES, 1987; GOONERATNE et al., 1989a; GOULD et al., 1991; ROUSSEAU et al., 1991; McALLISTER et al., 1992; HAMLEM et al., 1993; JEFFREY et al., 1994; BULGIN et al., 1996; LOW et al., 1996; HILL; EBBETT, 1997; McALLISTER et al., 1997; OLKOWSKY, 1997; GOULD, 1998; LONERAGAN et al., 1998; GOULD, 2000; GOULD et al., 2002; NILES et al., 2000; TRAVERSO et al., 2001; NILES et al., 2002; HAYDOCK, 2003; KUL et al., 2006; MCKENZIE et al., 2009). Em dois surtos observados durante o período de avaliação, foi possível a obtenção de três amostras alimentares. Essas amostras foram congeladas e enviadas, sob refrigeração, para o Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Leonia Aparecida de Lima e para o Laboratório de Fertilizantes e Corretivos do Departamento de Recursos Naturais da Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP, Botucatu, SP.

Os resultados da pesquisa de enxofre encontram-se na tabela 2.

**Tabela 2 - Concentrações de enxofre em amostras de ração, capim e água obtidas em propriedades que tiveram surtos naturais de polioencefalomalacia em bovinos no Rio Grande do Sul no período de 2007-2009.**

	Ração	Capim	Água
<b>Surto 1</b> (V-0904-08 e V-0967-08)	0,74 g Kg <sup>-1</sup>	1,8 g Kg <sup>-1</sup>	1 mg/L
<b>Surto 2</b> (V-0876-09)	n.f.	A – 1,5 g Kg <sup>-1</sup> B – 2,6 g Kg <sup>-1</sup> C – 1,3 g Kg <sup>-1</sup> D – 1,1 g Kg <sup>-1</sup> E – 0,9 g Kg <sup>-1</sup>	n.d.

n.f. – não havia fornecimento de ração para os animais; n.d. – amostra não disponibilizada.



Foi verificado que, em ambos os surtos as concentrações de enxofre identificadas nas amostras foram inferiores aos parâmetros considerados tóxicos para bovinos, segundo o NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1996). Entretanto, em uma amostra do surto 2, as concentrações de enxofre estavam próximas a 3%. Caso os animais tenham consumido grandes quantidades desses compostos ricos em enxofre ou tenham outra fonte alimentar com concentrações ainda mais elevadas no mineral, e que não foram incluídas na análise, é possível que a intoxicação por enxofre tenha causado ou, pelo menos, contribuído para a gênese dos casos de PEM observados nesse estudo.

## 6 DISCUSSÃO

Polioencefalomalacia (PEM) é uma importante enfermidade do sistema nervoso central de ruminantes que apresenta distribuição mundial e causa perdas econômicas substanciais.

No presente trabalho, a enfermidade foi estudada em duas regiões do Brasil (Estado do Rio Grande do Sul [Região Sul] e Região Centro-Oeste) onde casos da doença são descritos frequentemente. É necessário que mais dados epidemiológicos de PEM sejam realizados em outras regiões do Brasil para que fatores de risco para a doença sejam colhidos e determinados e, conseqüentemente, a doença seja melhor controlada. Nos Estados Unidos, por exemplo, sabe-se que em muitos estados do Meio-Oeste e do Oeste do país, as concentrações de enxofre no solo e, principalmente, na água são consideradas elevadas para o consumo de bovinos, o que representa um risco potencial para o desenvolvimento de PEM naquele país (GOULD et al., 2002).

A etiopatogênese da PEM ainda não está totalmente conhecida, entretanto sabe-se que muitos fatores etiológicos estão envolvidos no desenvolvimento da enfermidade. Numerosos estudos epidemiológicos e clínico-patológicos tem demonstrado que a deficiência de tiamina (JENSEN et al., 1956; EDWIN; JACKMAN, 1973; MEYER, 1989; PRITCHARD; EGGLESTON, 1978; HAVEN et al., 1983; RAMOS et al., 2005) e a intoxicação por enxofre (RAISBECK, 1982; HARRIES, 1987; GOONERATNE et al., 1989a; GOULD et al., 1991; ROUSSEAU et al., 1991; McALLISTER et al., 1992; HAMLEM et al., 1993; JEFFREY et al., 1994; BULGIN et al., 1996; LOW et al., 1996; HILL; EBBETT, 1997; McALLISTER et al., 1997; OLKOWSKY, 1997; GOULD, 1998; LONERAGAN et al., 1998; GOULD, 2000; GOULD et al., 2002; NILES et al., 2000; TRAVERSO et al., 2001; NILES et al., 2002; HAYDOCK, 2003; KUL et al., 2006; MCKENZIE et al., 2009), parecem ser, mais recentemente, as principais causas de PEM em ruminantes em várias regiões do mundo. No Brasil, no entanto, embora a enfermidade seja diagnosticada há algumas décadas, especialmente em bovinos adultos criados extensivamente, ainda são escassos os estudos onde um fator etiológico específico foi apontado como causador da doença (COLODEL et al., 1998; TRAVERSO et al., 2001; LIMA et al., 2005).

Na distribuição das lesões de PEM no encéfalo dos bovinos, foi observado que, em alguns casos, associadas à necrose neuronal cortical característica, ocorriam lesões histológicas em estruturas ventrais do encéfalo, como mesencéfalo, tálamo, núcleos basais e também hipocampo e cerebelo. Esses achados em conjunto com as concentrações de enxofre

moderadamente altas encontradas em forragens fornecidas a bovinos de um surto investigado por nossa equipe (V-0876-09), sugerem que o enxofre pode ser um mineral envolvido na etiopatogênese da PEM no Brasil. Em dois surtos de PEM no Brasil, um em ovinos (LIMA et al., 2005) e outro em bovinos (TRAVERSO et al., 2001), a intoxicação por enxofre foi apontada com causa da enfermidade. Embora os resultados do presente estudo sejam bastante exíguos para a confirmação da toxicose por enxofre como causa de PEM, é fundamental que em todos os surtos naturais da doença em ruminantes no Brasil, sejam determinadas, especialmente, as concentrações de tiamina e tiaminases, enxofre, sódio e chumbo em amostras de sangue, fezes, conteúdo ruminal, forragem, ração e água, bem como em outros componentes envolvidos na alimentação dos animais enfermos. Além disso, estudos sistemáticos detalhando a epidemiologia, os sinais clínicos da doença e suas correlações com os achados macroscópicos e, principalmente, histológicos poderão ser bastante úteis para o aprofundamento da determinação da etiopatogênese da PEM no Brasil.

Outra forma eficaz de estudar sistematicamente a patogênese da PEM em ruminantes é o estabelecimento de modelos experimentais, com o objetivo de determinar a dose do agente causador, a evolução dos sinais clínicos e o tipo e a distribuição das lesões no sistema nervoso central. No presente estudo, foi realizado um modelo experimental de PEM com intoxicação por amprólio, um conhecido antagonista da tiamina, em ovinos. A condição foi induzida pela administração oral de 500 e 1.000 mg/Kg de peso animal, respectivamente, por 28-59 dias e 13-39 dias. Foi notado que algumas alterações histológicas visualizadas no encéfalo dos ovinos intoxicados por amprólio diferem da PEM espontânea observada em bovinos (SANT'ANA et al., 2009b). Por exemplo, nos telencéfalos dos casos experimentais de ovinos, o limite entre a substância cinzenta afetada e a íntegra era abrupto. Adicionalmente, necrose neuronal e edema ocorreram homogeneamente entre as lâminas de neurônios do córtex telencefálico na PEM experimental, semelhantemente ao observado em ovinos intoxicados experimentalmente por amprólio (MORGAN, 1974) e naturalmente por enxofre (BULGIN et al., 1996; LOW et al., 1996). Nos casos espontâneos de bovinos, as camadas granular externa e interna do córtex occipital, parietal e frontal, foram mais afetadas por necrose de neurônios e edema (SANT'ANA et al., 2009a).

## 7 CONCLUSÕES

- No Rio Grande do Sul, polioencefalomalacia (PEM) afeta com maior frequência bovinos jovens, enquanto que na Região Centro-Oeste prevalecem os casos em bovinos adultos.
- PEM em bovinos não apresenta sazonalidade definida, nem preferência por raça ou sexo, no Rio Grande do Sul e na Região Centro-Oeste do Brasil.
- Os índices de morbidade, mortalidade e letalidade da PEM bovina nas duas regiões estudadas variam de 0,04-6,66%, 0,04-6,66% e 50-100%, respectivamente.
- Os principais sinais clínicos observados em bovinos afetados naturalmente por PEM são incoordenação, decúbito, cegueira, opistótono, movimentos de pedalagem e andar em círculos.
- As principais alterações macroscópicas observadas no encéfalo de bovinos com PEM são congestão e tumefação com achatamento das circunvoluções cerebrais.
- As lesões histológicas de PEM em bovinos predominam nos telencéfalos frontal, parietal e occipital, porém alterações menos acentuadas ocorrem em estruturas ventrais do encéfalo.
- As camadas granular externa e granular interna foram as regiões dos telencéfalos frontal, parietal e occipital mais afetadas por edema e necrose neuronal.
- Concentrações moderadamente altas de enxofre encontradas em forragens fornecidas a bovinos de um surto de PEM associadas às lesões histológicas em estruturas ventrais do encéfalo, como mesencéfalo, tálamo, núcleos basais e também hipocampo e cerebelo sugerem que o enxofre pode ser uma causa envolvida na etiopatogênese da PEM no Brasil.
- Intoxicação por amprólio é um bom modelo experimental para reprodução de PEM em ovinos.
- A administração oral de amprólio, nas concentrações de 500 e 1.000 mg/Kg de peso animal, induz PEM em ovinos em 28-59 dias e 13-39 dias, respectivamente.
- Hemorragia é uma alteração macro e microscópica frequentemente observada na PEM experimental induzida por amprólio em ovinos.
- O limite entre a substância cinzenta afetada e a íntegra é abrupto nos telencéfalos de ovinos afetados por PEM experimental por amprólio.

- Necrose neuronal e edema ocorrem homogeneamente entre as lâminas de neurônios do telencéfalo de ovinos com PEM induzida experimentalmente por amprólio.

## REFERÊNCIAS

ABE, K.; KIMURA, H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. **The Journal of Neuroscience**, Washington, v. 16, p. 1066-1071, 1996.

ANDERTON et al. Identification of a toxin suspected of causing death in livestock grazing *Phalaris* pastures. In: COLEGATE, S. M.; DORLING, P. R. (Ed.). **Plant-associated toxins: agricultural, phytochemical and ecological aspects**. Slough: CAB International, 1994. p. 269-274.

ANGELOS et al. Treatment of hypernatremia in an acidotic neonatal calf. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 214, p. 1364-1367, 1999.

ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY. 5., 2005/2006, Washington. Wednesday Slide Conference: case III. Disponível em <<http://vp4.afip.org/wsc/wsc05/05wsc05.pdf>>. Acesso em: 02 dez. 2009.

BARROS et al. **Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil**. São Paulo: Agnes, 2006. 206 p.

BLAKLEY, B. R. A retrospective study of lead poisoning in cattle. **Veterinary and Human Toxicology**, United States, v. 26, p. 505-507, 1984.

BOOTH, E. J.; WALKER, K. C.; GRIFFITHS, D. W. A time-course study of the effect of sulfur on glucosinolates in oilseed rape (*Brassica napus*) from the vegetative stage to maturity. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Hoboken, v. 56, p. 479-493, 1991.

BULGIN, M. S.; LINCOLN, S. D.; MATHER, G. Elemental sulfur toxicosis in a flock of sheep. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 208, p. 1063-1065, 1996.

CAMMERMEYER, J. The post-mortem origin and mechanism of neuronal hyperchromatosis and nuclear pyknosis. **Experimental Neurology**, San Diego, v. 2, p. 379-405, 1960.

CARRILLO, B. J. et al. Meningoencephalitis caused by IBR virus in calves in Argentina. **Zentralbl Veterinarmed B**, Germany, v. 30, p. 327-332, 1983a.

\_\_\_\_\_; POSPISCHIL, A.; DAHME, E. Pathology of a bovine necrotizing encephalitis in Argentina. **Zentralbl Veterinarmed B**, Germany, v. 30, p. 161-168, 1983b.

CEBRA, C. K.; CEBRA, M. L. Altered mentation caused by polioencephalomalacia, hypernatremia, and lead poisoning. **Veterinary Clinics of North America: food animal practice**, Stillwater, v. 20, p. 287-302, 2004.

CHRISTIAN, R. G.; TRYPHONAS, L. Lead poisoning in cattle: brain lesions and hematologic changes. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 32, p. 203-216, 1971.

COLODEL, E. M. et al. Polioencefalomalacia em caprinos associada à ingestão dos frutos de *Hovenia dulcis* (“uva-do-japão”). **Boletim do Laboratório Regional de Diagnóstico**, Pelotas, RS, v. 25, p. 35-42, 1998.

\_\_\_\_\_ et al. Meningoencefalite necrosante em bovinos causada por herpesvírus bovino no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 32, p. 293-298, 2002.

COPPOCK, R. W. et al. Evaluation of edetate and thiamine for treatment of experimentally induced environmental lead poisoning in cattle. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 52, p. 1860-1865, 1991.

CUMMINGS, B. A. et al. Identity and interactions of rumen microbes associated with dietary sulfate-induced polioencephalomalacia in cattle. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 56, p. 1384-1389, 1995.

DAVID, N. et al. Reactivation of latent bovine herpesvirus type 5 in cattle with polioencephalomalacia induced by ammonium sulphate. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, RJ, v. 27, p. 435-441, 2007.

DICKIE, C. W. et al. Polioencephalomalacia in range cattle. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 175, p. 460-462, 1979.

\_\_\_\_\_; BERRYMAN, J. R. Polioencephalomalacia and photosensitization associated with *Kochia scoparia* consumption in range cattle. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 175, p. 463-465, 1979.

DONAWICK, W. J. Chronic lead poisoning in a cow. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 148, p. 685-693, 1966.

DREYFUS, P. M. The regional distribution of transketolase in the normal and the thiamine deficient nervous system. **Journal of Neuropathology & Experimental Neurology**, Palo Alto, v. 24, p. 119-129, 1965.

DRIEMEIER, D.; BARROS, C. S. L. Intoxicação por chumbo. In: RIET-CORREA, F. et al. (Ed.). **Doenças de ruminantes e equídeos**. 3. ed. Santa Maria, RS : Pallotti, 2007. v. 2, p. 55-59.

DURAND, M.; KOMISARCZUK, S. Influence of major minerals on rumen microbiota. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 118, p. 249-260, 1988.

DWIVEDI, S. K. et al. Lead poisoning in cattle and buffalo near primary lead-zinc smelter in India. **Veterinary and Human Toxicology**, United States, v. 43, p. 93-94, 2001.

EDWIN, E. E.; LEWIS, G.; ALLCROFT, R. Cerebrocortical necrosis: A hypothesis for the possible role of thiaminases in its pathogenesis. **The Veterinary Record**, London, v. 83, p. 176-177, 1968.

\_\_\_\_\_; JACKMAN, R. Ruminal thiaminase and tissue thiamine in cerebrocortical necrosis. **The Veterinary Record**, London, v. 92, p. 640-641, 1973.

EDWIN, E. E.; JACKMAN, R. Ruminant thiamine requirement in perspective. **Veterinary Research Communications**, Edinburgh, v. 5, p. 237-250, 1981/1982.

\_\_\_\_\_ et al. Diagnostic aspects of cerebrocortical necrosis. **The Veterinary Record**, London, v. 104, p. 4-8, 1979.

ELIAS, F.; SCHILD, A. L.; RIET-CORREA, F. Meningoencefalite e encefalomalacia por herpesvírus bovino-5: distribuição das lesões no sistema nervoso central de bovinos naturalmente infectados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, RJ, v. 24, p. 123-131, 2004.

FERREIRA, F. A.; COELHO, H. E.; BASTOS, J. E. D. Polioencefalomalácia em bovinos no estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, MG, v. 38, p. 693-700, 1986.

GABBEDY, B. J.; RICHARDS, R. B. Polioencephalomalacia of sheep and cattle. **Australian Veterinary Journal**, Saint Leonards, v. 53, p. 37-38, 1977.



GALEY, F. D. et al. Lead concentrations in blood and milk from periparturient dairy heifers seven months after an episode of acute lead toxicosis. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Athens, v. 2, p. 222-226, 1990.

GONÇALVES, R. C. et al. Aspectos clínicos, anatomopatológicos e epidemiológicos da polioencefalomalácia em bovinos, na região de Botucatu, SP. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, MG, v. 7, p. 53-57, 2001.

GOONERATNE, S. R.; OLKOWSKI, A. A.; CHRISTENSEN, D. A. Sulfur-induced polioencephalomalacia in sheep: some biochemical changes. **Canadian Veterinary Journal**, Guelph, p. 53, v. 462-467, 1989a.

\_\_\_\_\_ et al. High sulfur related thiamine deficiency in cattle: a field study. **Canadian Veterinary Journal**, Guelph, p. 30, p. 139-146, 1989b.

GOULD, D. H. et al. High sulfide concentrations in rumen fluid associated with nutritionally induced polioencephalomalacia in calves. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 152, p. 1164-1169, 1991.

\_\_\_\_\_; CUMMINGS, B. A.; HAMAR, D. W. In vivo indicators of pathologic ruminal sulfide production in steers with diet-induced polioencephalomalacia. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Athens, p. 9, v. 72-76, 1997.

\_\_\_\_\_. Polioencephalomalacia. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, p. 309-314, 1998.

\_\_\_\_\_. Update on sulfur-related polioencephalomalacia. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Stillwater, v. 16, p. 481-496, 2000.

\_\_\_\_\_ et al. Potentially hazardous sulfur conditions on beef cattle ranches in the United States. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 221, p. 673-677, 2002.

GRECCO, F. B.; SCHEIN, F.; DANTAS, A. F. M. Polioencefalomalacia em bovinos no Estado de Mato Grosso. In: ENCONTRO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA, 10., 2001, Pirassununga, SP. **Anais...** Pirassununga, SP: [s.n.], 2001.

GUIMARÃES E. B. et al. Ocorrência natural de polioencefalomalacia em búfalos Murrah (*Buballis bubalis*), mantidos em pastagem de gramínea consorciada com leguminosa em fase

de rebrota, em MS. In: ENCONTRO NACIONAL DE DIAGNÓSTICO VETERINÁRIO, 2., 2008, Campo Grande, MS. **Anais...** Campo Grande, MS: [s.n], 2008.

HAMLEM, H., CLARK, E.; JANZEN, E. Polioencephalomalacia in cattle consuming water with elevated sodium sulfate levels: A herd investigation. **Canadian Veterinary Journal**, Guelph, v. 34, p. 153-158, 1993.

HARRIES, N. Polioencephalomalacia in feedlot cattle drinking water high in sodium sulfate. **Canadian Veterinary Journal**, Guelph, v. 28, p. 717, 1987.

HAVEN, T. R., CALDWELL, D. R.; JENSEN, R. Role of predominant rumen bacteria in the cause of polioencephalomalacia (cerebrocortical necrosis) in cattle. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 44, p. 1451-1455, 1983.

HAYDOCK, D. Sulfur-induced polioencephalomalacia in a herd of rotationally grazed beef cattle. **Canadian Veterinary Journal**, Guelph, v. 44, p. 828-829, 2003.

HILL, F. I.; EBBETT, P. C. Polioencephalomalacia in cattle in New Zealand fed chou moellier (*Brassica oleracea*). **New Zealand Veterinary Journal**, Palmerston North, v. 45, p. 37-39, 1997.

HOFF, B.; BOERMANS, H. J.; BAIRD, J. D. Retrospective study of toxic metal analyses requested at a veterinary toxicology laboratory in Ontario (1990-1995). **Canadian Veterinary Journal**, Guelph, v. 39, p. 39-43, 1998.

HUSSAIN, R. A. et al. Plant-derived sweetening agents: saccharide and polyol constituents of some sweet-tasting plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Leiden, v. 28, p. 103-115, 1990.

JACKMAN, R.; EDWIN, E. E. Cerebral autofluorescence and thiaminase deficiency in cerebrocortical necrosis. **The Veterinary Record**, London, v. 112, p. 548-550, 1983.

JEFFREY, M. et al. Polioencephalomalacia associated with the ingestion of ammonium sulphate by sheep and cattle. **The Veterinary Record**, London, v. 134, p. 343-348, 1994.

JENSEN, R.; GRINER, L. A.; ADAMS, O. R. Polioencephalomalacia of cattle and sheep. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 129, p. 311-321, 1956.

JORTNER, B. S. The return of the dark neuron. A histologic artifact complicating contemporary neurotoxicologic evaluation. **Neurotoxicology**, Little Rock, v. 27, p. 628-634, 2006.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5th ed. New York: Academic Press, 1997. 932 p.

KRAMETTER-FROETSCHER, R. Toxic effects seen in a herd of beef cattle following exposure to ash residues contaminated by lead and mercury. **Veterinary Journal**, London, v. 174, p. 99-105, 2007.

KUL, O. et al. Polioencephalomalacia in cattle: A consequence of prolonged feeding barley malt sprouts. **Journal of Veterinary Medicine A**, Berlin, v. 53, p. 123-128, 2006.

LEMOS, R. A. A. et al. Meningoencefalite eosinofílica em bovinos no Estado de Mato Grosso do Sul. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 64, p. 43, 1997. Suplemento.

\_\_\_\_\_ et al. Lead poisoning in cattle grazing pasture contaminated by industrial waste. **Veterinary and Human Toxicology**, United States, v. 46, p. 326-328, 2004.

\_\_\_\_\_. **Enfermidades do sistema nervoso de bovinos de corte das regiões Centro-Oeste e Sudeste do Brasil**. 2005. 150 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2005.

\_\_\_\_\_; RIET-CORREA, F. Polioencefalomalacia. In: RIET-CORREA, F. et al. (Ed.). **Doenças de ruminantes e equídeos**. 3. ed. Santa Maria, RS: Palotti, 2007. v. 2, p. 658-670.

LIMA, E. F. et al. Polioencefalomalacia em caprinos e ovinos na região semi-árida do Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, RJ, v. 25, p. 9-14, 2005.

LINDLEY, W. H. Water deprivation in cattle. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 171, p. 439-440, 1977.

LINKLATER, K. A.; DYSON, D. A.; MORGAN, K. T. Faecal thiaminase in clinically normal sheep associated with outbreaks of polioencephalomalacia. **Research in Veterinary Science**, Rome, v. 22, p. 308-312, 1977.

LOEW, F. M.; DUNLOP, R. H. Induction of thiamine inadequacy and polioencephalomalacia in adult sheep with amprolium. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 33, p. 2195-2205, 1972.

\_\_\_\_\_. Nutrition and bovine neurologic disease. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 166, p. 219-221, 1975.

LONERAGAN, G. H. et al. Association of excess sulfur intake and an increase in hydrogen sulfide concentrations in the ruminal gas cap of recently weaned beef calves with polioencephalomalacia. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 213, p. 1599-1604, 1998.

\_\_\_\_\_; GOULD, D. H. Polioencephalomalacia (cerebrocortical necrosis). In: SMITH, B. P. (Ed.) **Large Animal Internal Medicine**. 3rd. ed. St Louis: Mosby, 2002. p. 920-926.

LOW, J. C. et al. Sulphur-induced polioencephalomalacia in lambs. **The Veterinary Record**, London, v. 138, p. 327-329, 1996.

MARKSON, L. M. et al. The aetiology of cerebrocortical necrosis: the effects of administering antimetabolites of thiamine to preruminant calves. **British Veterinary Journal**, London, v. 128, p. 488-499, 1972.

\_\_\_\_\_ et al. The production of cerebrocortical necrosis in ruminant calves by the intraruminal administration of amprolium. **British Veterinary Journal**, London, v. 130, p. 9-16, 1974.

MAXIE, M. G.; YOUSSEF, S. Nervous system. In: MAXIE, M.G. (Ed.) **Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals**. 5th. ed. Edinburgh: Saunders Elsevier, 2007. v. 1, p. 281-457.

McALLISTER, M. M.; GOULD, D. H.; HAMAR, D. W. Sulphide-induced polioencephalomalacia in lambs. **Journal of Comparative Pathology**, Bristol, v. 106, p. 267-278, 1992.

\_\_\_\_\_ et al. Evaluation of ruminal sulfide concentrations and seasonal outbreaks of polioencephalomalacia in beef cattle in a feedlot. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 211, p. 1275-1279, 1997.

McKENZIE, R. A. et al. Sulfur-associated polioencephalomalacia in cattle grazing plants in the family Brassicaceae. **Australian Veterinary Journal**, Saint Leonards, v. 87, p. 27-32, 2009.

MELLA, C. M.; PEREZ-OLIVA, O.; LOEW, F. M. Induction of bovine polioencephalomalacia with a feeding system based on molasses and urea. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, Ontario, v. 40, p. 104-110, 1976.

MEYER, P. Thiaminase activities and thiamine content of *Pteridium aquilinum*, *Equisetum ramosissimum*, *Malva parviflora*, *Pennisetum clandestinum* and *Medicago sativa*. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, Pretoria, v. 56, p. 145-146, 1989.

MIGUEL, M. P. et al. Frequência de casos de polioencefalomalacia em bovinos encaminhados ao Setor de Patologia Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás (UFG) no período de jan. 2003 a mar. 2005. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, MG, v. 57, p. 72, 2005. Suplemento 1.

MORGAN, K. T. Amprolium poisoning of preruminant lambs: an ultrastructural study of the cerebral malacia and the nature of the inflammatory response. **Journal of Pathology**, Belfast, v. 112, p. 229-236, 1974.

\_\_\_\_\_; LAWSON, G. H. K. Thiaminase type 1-producing bacilli and ovine polioencephalomalacia. **The Veterinary Record**, London, v. 95, p. 361-363, 1974.

MORO, L. et al. Relato de três casos de polioencefalomalacia em bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, MG, v. 46, p. 409-416, 1994.

MOSCARDINI, A. R. C. et al. Doenças com sinais neurológicos em ovinos no DF e entorno. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE BUIATRIA, 11., 2003, Salvador, BA. **Anais...** Salvador, BA: [s.n.], 2003.

MOTTA, A. et al. Polioencefalomalácia em bovinos. In: ENCONTRO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA, 9, 1999, Belo Horizonte, MG. **Anais...** Belo Horizonte, MG: [s.n.], 1999.

MUELLER, R. E; ASPLUND, J. M. Evidence in the ovine that polioencephalomalacia is not a result of an uncomplicated thiamine deficiency. **Nutrition Reports International**, United States, v. 24, p. 95-104, 1981.

NAKAZATO, L.; LEMOS, R. A. A.; RIET-CORREA, F. Polioencefalomalacia em bovinos nos estados de Mato Grosso do Sul e São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, RJ, v. 20, p. 119-125, 2000.

NASCIMENTO, I. A. et al. Polioencefalomalacia em ovinos: relato de caso. In: CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 5., 2003, Recife, PE. **Anais...** Recife, PE: [s.n.], 2003.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. 7th. ed. Washington: National Academy Press, 1996. 234 p.

NILES, G. A.; MORGAN, S. E.; EDWARDS, W. C. Sulfur-induced polioencephalomalacia in stocker calves. **Veterinary and Human Toxicology**, United States, v. 42, p. 290-291, 2000.

\_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_. Effects of dietary sulfur concentrations on the incidence and pathology of polioencephalomalacia in weaned beef calves. **Veterinary and Human Toxicology**, United States, v. 44, p. 70-72, 2002.

NOGUEIRA, A. P. A.; CARDINAL, S. G.; LEMOS, R. A. A. Levantamento de casos de polioencefalomalacia em bovinos diagnosticados no Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, entre os anos de 2005 e 2008. In: ENCONTRO NACIONAL DE DIAGNÓSTICO VETERINÁRIO, 2., 2008, Campo Grande, MS. **Anais...** Campo Grande, MS: [s.n.], 2008.

NOREMBERG, M. D. The role of astrocytes in hepatic encephalopathy. **Neurochemical Pathology**, United States, v. 6, p. 13-33, 1987.

OLIVEIRA, L. A. et al. Effect of a high sulfur diet on rumen microbial activity and rumen thiaminase status in sheep receiving a semisynthetic, thiamine-free diet. **Reproduction Nutrition Development**, Les Ulis Cedex, v. 36, p. 31-42, 1996.

OLKOWSKI, A. A. et al. Role of thiamine status in sulphur induced polioencephalomalacia in sheep. **Research in Veterinary Science**, Rome, v. 52, p. 78-85, 1992.

\_\_\_\_\_. Neurotoxicity and secondary metabolic problems associated with low to moderate levels of exposure to excess dietary sulphur in ruminants: a review. **Veterinary and Human Toxicology**, United States, v. 39, p. 355-360, 1997.

O'TOOLE, D. et al. Selenium-induced blind staggers and related myths. A complementary on the extent of historical livestock losses attributed to selenosis on Western US rangelands. **Veterinary Pathology**, Cary, v. 33, p. 109-116, 1996.

PRIESTER, W. A.; HAYES, H. M. Lead poisoning in cattle, horses, cats, and dogs as reported by all Colleges of Veterinary Medicine in the United States and Canada from July 1968 through June 1972. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 35, p. 567-569, 1974.

PRITCHARD, D.; EGGLESTON, G. W. Nardoo fern and polioencephalomalacia. **Australian Veterinary Journal**, Saint Leonards, v. 54, p. 204-205, 1978.

PURISCO, E. **Ocorrência de polioencefalomalácia em bovinos no Estado de Mato Grosso do Sul**. 1982. 24 f. Monografia – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 1982.

RADOSTITS, O. M. et al. **Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats**. 10th. ed. Edinburgh: Saunders Elsevier, 2007. p. 2006-2012.

RAISBECK, M. F. Is polioencephalomalacia associated with high-sulfate diets? **Journal of American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 180, p. 1303-1305, 1982.

RAMMELL, C. G.; HILL, J. H. A review of thiamine deficiency and its diagnosis, especially in ruminants. **New Zealand Veterinary Journal**, Palmerston North, v. 34, p. 202-204, 1986.

RAMOS, J. J. et al. Polioencephalomalacia in adult sheep grazing pastures with prostate pigweed. **Canadian Veterinary Journal**, Guelph, v. 46, p. 59-61, 2005.

RIET-CORREA, F. et al. Meningoencefalite e necrose do córtex cerebral em bovinos por herpesvírus bovino-1. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, RJ, v. 9, p. 13-16, 1989.

\_\_\_\_\_ et al. Polioencefalomalacia em bovinos. **Boletim do Laboratório Regional de Diagnóstico**, v. 18, p. 19-21, 1998.

\_\_\_\_\_; RIET-CORREA, G.; SCHILD, A. L. Importância do exame clínico para o diagnóstico das enfermidades do sistema nervoso em ruminantes e eqüídeos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, RJ, v. 22, p. 161-168, 2002.

\_\_\_\_\_ et al. Polioencephalomalacia. In: JORNADAS URUGUAYAS DE BUIATRÍA, 35., 2007, Paysandú, Uruguai. **Anais...** Paysandú, Uruguai: [s.n], 2007.

RIET-CORREA, G. et al. Meningoencefalite e polioencefalomalacia causada por Herpesvírus bovino-5 no Estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, RJ, v. 26, p. 44-46, 2006.

RISSI, D. R. et al. Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, RJ, v. 26, p. 123-132, 2006.

\_\_\_\_\_. Neurological disease in cattle in southern Brazil associated with bovine herpesvirus infection. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Athens, v. 20, p. 346-349, 2008.

ROUSSEAU, C. G. et al. Ovine polioencephalomalacia associated with dietary sulphur intake. **Journal of Veterinary Medicine A**, Berlin, v. 38, p. 229-239, 1991.

SAGER, R. L.; HAMAR, D. W.; GOULD, D. H. Clinical and biochemical alterations in calves with nutritionally induced polioencephalomalacia. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 51, p. 1969-1974, 1990.

SANCHES, A. W. D. et al. Doenças do sistema nervoso central em bovinos no Sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, RJ, v. 20, p. 113-118, 2000.

SANT'ANA, F. J. F. et al. Polioencefalomalacia em bovinos: epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões no encéfalo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, RJ, v. 29, p. 487-497, 2009a.

\_\_\_\_\_. Polioencefalomalacia experimental induzida por amprólio em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, RJ, v. 29, p. 747-752, 2009b.

SANTOS, M. N.; JARDIM FILHO, J. O.; GRANDO, F. A. Polioencefalomálacia em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, RJ, v. 3, p. 37-39, 1983.

SARGISON, N. D. et al. Polioencephalomalacia associated with chronic copper poisoning in a Suffolk ram lamb. **The Veterinary Record**, London, v. 135, p. 556-557, 1994.

SCARRATT, W. K.; COLLINS, T. J.; SPONENBERG, D. P. Water deprivation-sodium chloride intoxication in a group of feeder lambs. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 186, p. 977-978, 1985.



SCHILD, A. L.; FERREIRA, J. L. M.; SOARES, M. P. Polioencefalomalácia em bovinos. **Boletim do Laboratório Regional de Diagnóstico**, Pelotas, RS, v. 25, p. 32-34, 2005.

SEIMIYA, Y.; ITOH, H.; OHSHIMA, K. Brain lesions of lead poisoning in a calf. **The Journal of Veterinary Medical Science**, Tokyo, v. 53, p. 117-119, 1991.

SHREEVE, J. E.; EDWIN, E. E. Thiaminase-producing strains of *Clostridium sporogenes* associated with outbreaks of cerebrocortical necrosis. **The Veterinary Record**, London, v. 94, 1974. p. 330.

SUMMERS, B. A.; CUMMINGS, J. F.; De LAHUNTA, A. **Veterinary Neuropathology**. Saint Louis: Mosby, 1995. p.277-280.

THORNBUR, E. J. et al. Polioencefalomalacia (cerebrocortical necrosis) induced by experimental thiamine deficiency in lambs. **Research in Veterinary Science**, Rome, v. 26, p. 378-380, 1979.

TRAVERSO, S. D. et al. Polioencefalomalacia em bovinos leiteiros no Rio Grande do Sul suplementados com enxofre. In: ENCONTRO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA, 10., 2001, Pirassununga, SP. **Anais...** Pirassununga, SP: [s.n.], 2001.

\_\_\_\_\_. Lead poisoning in cattle in southern Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, MG, v. 56, p. 418-421, 2004.

TRUEMAN, K. F.; CLAGUE, D. C. Sodium chloride poisoning in cattle. **Australian Veterinary Journal**, Saint Leonards, v. 54, p. 89-91, 1978.

VIEIRA, A. C. S. et al. Estudo epidemiológico, clínico e patológico em ruminantes com polioencefalomalácia no agreste meridional de Pernambuco. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, RJ, v. 29, p. 65-68, 2007.

WEIBLEN, R. et al. Bovine meningoencephalitis from IBR virus. **The Veterinary Record**, London, v. 124, p. 666-667, 1989.