



## INTOXICAÇÃO ESPONTÂNEA E EXPERIMENTAL POR FUMONISINA EM SUÍNOS NO BRASIL

### FUMONISIN POISONING IN BRAZILIAN SWINE

Janio Morais Santurio<sup>1</sup>, Fernandes Luis Dotto<sup>2</sup>, Claudio Severo Lombardo de Barros<sup>3</sup>, Fausto Maluff<sup>2</sup>,  
Jaime Gris<sup>2</sup>, Fabiano Nunes Oliveira<sup>3</sup> & Sydney Hartz Alves<sup>1</sup>

#### RESUMO

Fumonisinas (FMN) são micotoxinas produzidas pelo fungo *Fusarium (moniliforme) verticillioides* que coloniza o milho no período pré-colheita. É descrito aqui um surto de intoxicação espontânea por fumonisina em suínos alimentados com quirera de milho (QM), um subproduto do processo de pré-limpeza do milho. A QM estava contaminada com 112 ppm de FMN. Doze de 16 suínos morreram 5-6 dias após a QM contaminada ter sido introduzida em sua alimentação. Os sinais clínicos incluíam distúrbios respiratórios e avermelhamento da ponta das orelhas. Na necropsia, a lesão mais proeminente consistia de edema intersticial e alveolar associado com hidrotórax bilateral caracterizado por líquido citrino claro e translúcido. O cultivo da QM contaminada com FMN, realizada através de diluições seriadas e cultivo em meio DRBC, mostrou  $6,7 \times 10^6$  unidades formadoras de colônia por grama (UFC/g) e 96,6% dos fungos que cresceram eram espécies de *Fusarium verticillioides* e *F. nygamai*. Para confirmar o diagnóstico de intoxicação por fumonisina foi conduzido experimento usando quatro suínos jovens que foram alimentados com a mesma QM contaminada por FMN que havia sido consumida pelos suínos afetados espontaneamente. Cinco dias após o início do experimento, dois suínos foram sacrificados após apresentar sinais clínicos bem desenvolvidos que incluíam avermelhamento das pontas das orelhas e focinho e perturbações respiratórias. Os achados de necropsia e histopatológicos nos suínos do experimento foram os mesmos encontrados nos suínos afetados espontaneamente. Esta é a primeira descrição de intoxicação espontânea por fumonisina em suínos no Brasil.

**Descritores:** Doença de suínos, intoxicações, micotoxinas, fumonisina, *Fusarium* spp., edema pulmonar.

#### ABSTRACT

Fumonisins (FMN) are mycotoxins produced by the fungus *Fusarium (moniliforme) verticillioides* which parasitize corn crops before harvest. Here, it is reported an outbreak of spontaneous fumonisin poisoning in pigs fed broken corn kernells (BC) which result as a byproduct of the pre-cleaning process of the corn crops. The BC were contaminated by 112 ppm of FMN. Twelve out of 16 pigs died 5-6 days after being introduced to the FMN contaminated BC. Clinical signs included respiratory distress and cyanosis of the tip of ears. At necropsy interstitial and alveolar pulmonary edema was the most striking lesion; these changes were associated with clear golden yellow translucent fluid collected bilaterally in the thoracic cavity. The culture of the FMN contaminated BC, carried out through a series of dilutions and cultivation in DRBC medium, yield  $6.7 \times 10^6$  colony forming units per gram (CFU/gr); 96.6% of the fungi that was grown were either *Fusarium verticillioides* or *F. nygamai*. An experimental feeding trial was conducted to confirm the diagnosis of FMN poisoning. Four young pigs were fed the same FMN contaminated BC ration consumed by the spontaneously affected swine. Five days after the start of the trial two pigs died after presenting advanced clinical signs which included cyanosis of the tip of the ears, snout and respiratory distress. Necropsy and histopathological findings in these swine were the same as those found in the spontaneously affected swine. This is the first description of spontaneous poisoning by fumonisin in swine in Brazil.

**Key words:** Diseases of swine, toxic diseases, mycotoxins, fumonisin, *Fusarium* spp., pulmonary edema.

Received: October 2002

Accepted: December 2002

<sup>1</sup> Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). <sup>2</sup> Departamento Veterinário, Cooperativa Mista Vale do Piquiri Ltda. (C-VALE), Palotina, PR. <sup>3</sup> Departamento de Patologia, UFSM, Santa Maria, RS.  
CORRESPONDÊNCIA: J. M. Santurio [e-mail: santurio@smail.ufsm.br ; FAX: + 55 220 8906]. LAPEMI - UFSM; 97105-900 Santa Maria, RS - Brasil.

## INTRODUÇÃO

Fumonisinas (FMN) B1, B2 e B3 são micotoxinas produzidas pelo fungo *Fusarium (moniliforme) verticillioides*, que coloniza milho no período pré colheita [2]. FMN induzem toxicidade cardiovascular, edema pulmonar e degeneração hepatocelular em suínos, leucoencefalomalacia em equinos e nefropatia em ratos, coelhos, e cordeiros [5]. O mecanismo de ação dessas micotoxinas é relacionado com a inibição das enzimas esfingosina N-aciltransferase e esfinganina N-aciltransferase, responsáveis pela biossíntese de esfingolipídios [14]. Em suínos, a ingestão de milho contaminado com FMN causa alteração na biossíntese dos esfingolipídios e, conseqüentemente, aumento das concentrações de esfingosina e esfinganina no plasma e nos tecidos [12, 13]. A ingestão de milho com altas concentrações de FMN (175-400 ppm), provocou edema pulmonar agudo e morte de suínos [1-3, 9].

O objetivo deste trabalho é descrever uma mortalidade em suínos associada à intoxicação por fumonisina.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Em outubro de 2002, observou-se um episódio de mortalidade em suínos após um curso clínico agudo, em uma pequena propriedade com 16 animais, no interior do município de Palotina, Paraná. Na alimentação eram aproveitados sobras de grãos (quirera), utilizando somente sobras de milho (QM) oriundas de processos de pré-limpeza de unidades armazenadoras da região, sem uso de ração balanceada composta. O produtor comunicou a morte de 12 suínos com peso e idade variáveis.

Os sinais clínicos incluíam dificuldade respiratória e avermelhamento da ponta das orelhas. Na necropsia observava-se coleção de líquido citrino claro e transparente na cavidade torácica, distensão dos septos interlobulares do pulmão e espuma branca na traquéia e brônquios principais. A morte ocorria 5 a 6 dias após o início da alimentação com a ração contaminada. Amostras da QM (Figura 1E) foram colhidas e enviadas ao Laboratório de Pesquisas Micológicas da Universidade Federal de Santa Maria (LAPEMI/UFSM).

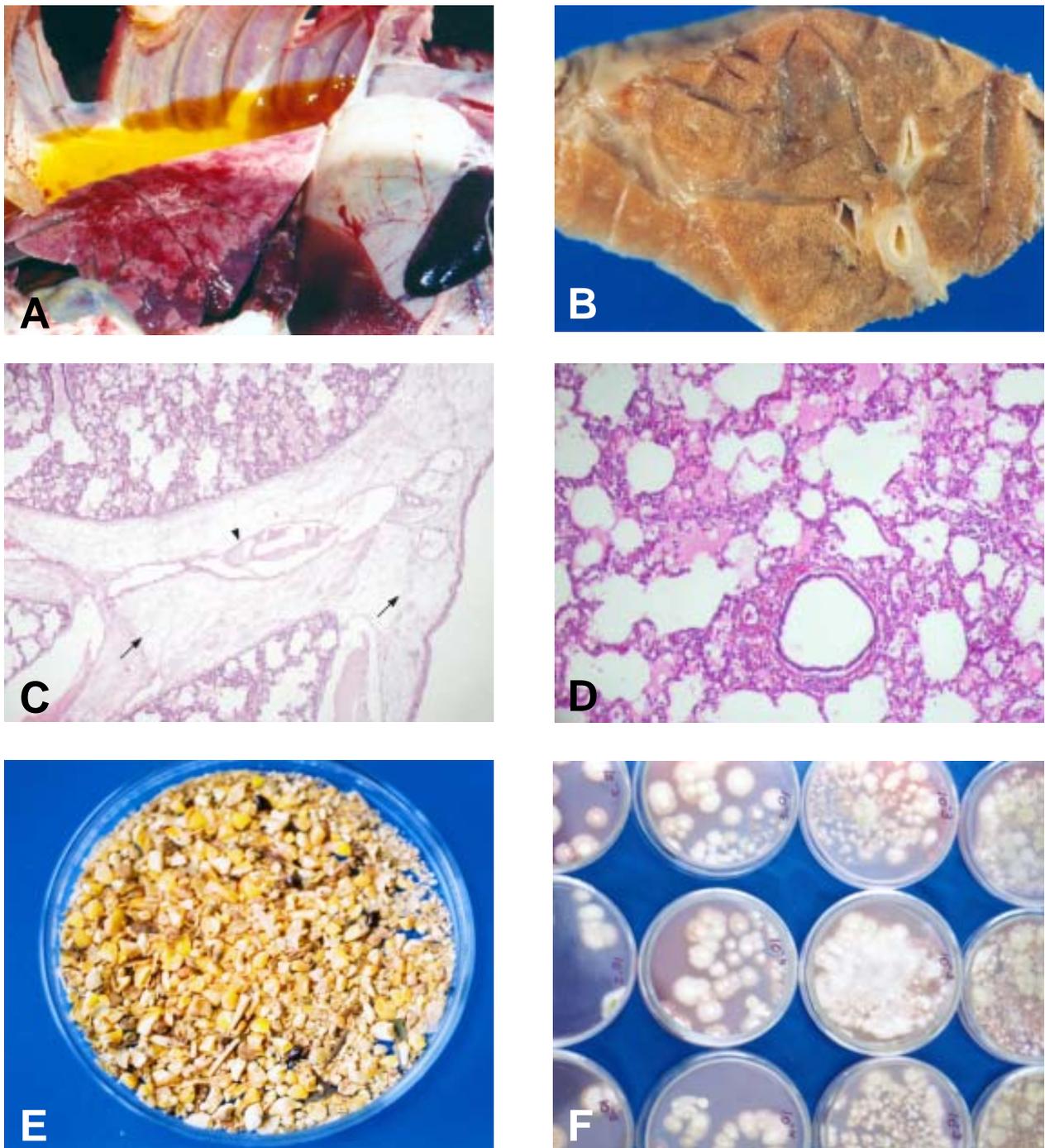
## RESULTADOS

No LAPEMI/UFSM, foram detectados 112 mg/kg (ppm) de fumonisinas (FMN), através de análise em colunas de imunoafinidade Vicam<sup>®</sup>, marca FumoniTest<sup>™</sup> elaboradas para detecção de fumonisina B1, B2 e B3 e leitura, através de fluorímetro Vicam

Series-4<sup>®</sup>. O cultivo da QM contaminado com FNM, através de diluições seriadas e cultivo em meio DRBC (Figura 1F), produziu  $6,7 \times 10^6$  unidades formadoras de colônias fúngicas por grama (UFC/g) e 96,6% dos fungos que cresceram no meio DRBC quando examinados microscopicamente revelaram ser micélios com hifas septadas, presença de monofiálides simples e ramificadas. Microconídeos ovóides abundantes arranjados em cadeias e falsas cabeças e macroconídeos alongados, com paredes finas, com 3 a 5 septos, apresentando as células centrais retas e extremidades curvadas, com células apicais e basais diferenciadas caracterizando a espécie de *Fusarium verticillioides*. O aspecto microscópico do outro fungo majoritariamente isolado consistia de hifas septadas, monofiálides simples e ramificadas e polifiálides; microconídeos ovóides abundantes arranjados em cadeias e falsas cabeças. Macroconídeos alongados com extremidades curvadas, paredes finas, com 3 a 5 septos e células apicais e basais diferenciadas com clamidosporos isolados ou em cadeias caracterizando a espécie *F. nygamai*.

Para confirmar o diagnóstico de intoxicação por fumonisina, quatro leitões foram alimentados com a mesma QM que havia provocado a doença espontânea. Setenta e duas horas após o início do experimento, três desses leitões mostraram elevação da temperatura retal (40°C) e no quinto dia do experimento dois animais apresentavam avermelhamento da ponta das orelhas e do focinho. No sexto dia do experimento, dois leitões foram sacrificados e foram necropsiados. Fragmentos de pulmão, coração, fígado e rim desses animais foram processados rotineiramente para histopatologia. Os achados de necropsia foram basicamente os mesmos observados nos casos espontâneos. Nos dois leitões experimentalmente intoxicados havia coleção bilateral de líquido citrino claro e transparente (Figura 1A). Líquido semelhante distendia os septos interlobulares separando os lóbulos pulmonares. Alteração edematosa semelhante era observada no tecido conjuntivo peribronquial e pleura visceral (Figura 1B). Havia acentuação do padrão lobular no fígado dos dois leitões. Microscopicamente, o tecido conjuntivo peribronquial e peribronquiolar, os linfáticos, a pleura visceral e os alvéolos pulmonares estavam distendidos por edema caracterizado por material eosinofílico homogêneo (Figuras 1C e 1D).

Entre o sétimo e o décimo terceiro dias do experimento, os dois leitões sobreviventes se recusavam a consumir a QM e praticavam coprofagia. Em razão disso, o experimento foi encerrado.



**Figura 1.** Suínos na intoxicação experimental por fumonisina (A) Carcaça com moderada quantidade de líquido citrino claro e translúcido na cavidade torácica. (B) Aspecto macroscópico do pulmão. Observe o edema interlobular e peribronquial (cabeça de seta). (C) Aspecto histológico do pulmão. Observe o edema subpleural e interlobular (setas) e a dilatação dos linfáticos (cabeça de seta). Hematoxilina e eosina. Obj. 5. (D) Aspecto histológico do pulmão de suíno. Observe a congestão e edema intralveolar. Hematoxilina e eosina. Obj. 20. (E) Quirera de milho com 112 ppm de FMN administrada aos suínos. (F) Microbiota fúngica, em meio DRBC, isolada da quirera de milho administrada aos suínos, destacando-se maciça contaminação por *Fusarium verticillioides*.

## DISCUSSÃO

O diagnóstico de intoxicação por fumonisinas (FMN) foi feito com base nos sinais clínicos, achados de necropsia e histopatologia característicos [1,15], além da determinação, na ração consu-mida pelos suínos, de alta contaminação fúngica e altos níveis de fumonisinas (FMN). Confirmação adicional foi obtida pela reprodução experimental da doença em suínos jovens pela administração *ad libitum* da ração suspeita.

A elevada contaminação fúngica de  $6,7 \times 10^6$  UFC/g, com 96,6% de *Fusarium* spp., encontrada na quirera de milho (QM) que provocou a intoxicação nos suínos, indica que o processo de pré-limpeza do milho na moega separa material altamente contaminado e que, portanto, esse tipo de alimento não deve ser destinado ao consumo de animais, pois a quantidade de fungos encontrada na QM foi cerca de 1.000 vezes maior que a considerada tolerável para o milho [7].

O desenvolvimento de *Fusarium* spp., particularmente *F. verticillioides* (a principal espécie produtora de FMN), em lavouras de milho pré-colheita é comum na região sul do Brasil [11]. No surto de intoxicação por FMN descrito aqui, a prática do aproveitamento de sobras (rejeitos) de milho quebrado, decorrentes da passagem do milho em peneiras de pré-limpeza, visava aliviar os pesados prejuízos do produtor causados pelo alto custo de produção e baixo preço obtido pelo suíno vivo para o abate.

A concentração de FMN detectada na QM (112 ppm) é muito elevada. Embora essa concentração esteja abaixo da encontrada por alguns autores [3,4,6,9] que relataram concentrações entre 175 e 400 ppm para provocar edema pulmonar agudo, ela está ainda muito acima dos níveis de FMN encontrado por autores como Zomborski-Kovacs *et al.* [15] que relataram edema pulmonar moderado em leitões alimentados com rações contendo 10 ppm de FMN. Portanto, os níveis de FMN encontrados na QM administrada aos suínos deste relato estão no espectro tóxico capaz de induzir edema pulmonar.

Os achados de necropsia dos suínos nos casos espontâneos e os achados de necropsia e histopatológicos nos dois suínos do experimento, consistiram principalmente de hidrotórax e de lesões edematosas no pulmão, que são as mesmas descritas por outros autores em relação à intoxicação por FMN em suínos [1,15]. O mecanismo que induz esses edemas é controverso e atribuído à insuficiência do coração esquerdo [13] ou ao au-

mento da permeabilidade nos capilares pulmonares [3, 4, 8]. No entanto, parece certo que o edema pulmonar em suínos, que ocorre na intoxicação por FMN, está relacionado ao bloqueio na disponibilidade de íons  $Ca^{2+}$  tipo-1, mediado pela esfingosina alterada por essas micotoxinas [10]. A baixa disponibilidade nesse tipo de íons cálcio causa a insuficiência cardíaca e o aumento da permeabilidade vascular pulmonar em suínos [2].

## CONCLUSÕES

Segundo o que se pode depreender da literatura, esse é o primeiro relato da intoxicação por FMN em suínos no Brasil. Pode-se afirmar que essa toxicose é um problema de saúde animal potencialmente importante que pode causar grandes perdas para produtores de suínos, principalmente para aqueles que utilizam milho de baixa qualidade para a alimentação dos animais, como ocorreu no caso desta propriedade onde ocorreu este surto de intoxicação.

## REFERÊNCIAS

- 1 **Colvin B.M., Cooley A.J. & Beaver R.W. 1993.** Fumonisin toxicosis in swine: clinical and pathologic findings. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 5: 232-241.
- 2 **Constable P.D., Smith G.W., Rottinghaus G.E. & Haschek W.M. 2000.** Ingestion of fumonisin B1-containing culture material decreases cardiac contractility and mechanical efficiency in swine. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 162: 151-160.
- 3 **Fasekas B., Bajmocy E., Glavits R., Fenyvesi A. & Tanyi J. 1998.** Fumonisin B1 contamination of maize and experimental acute fumonisin toxicosis in pigs. *Zentralblatt fur Veterinarmedizin. Reihe B*. 45: 171-181.
- 4 **Gumprecht L. A., Beasley V. R., Weigel R. M., Parker H. M., Tumbleson M.E., Bacon C. W., Meredith F. I. & Haschek W. M. 1998.** Development of fumonisin-induced hepatotoxicity and pulmonary edema in orally dosed swine: morphological and biochemical alterations. *Toxicologic Pathology*. 26: 777-788.
- 5 **Gumprecht L. A., Smith G. W., Constable P. C. & Haschek W. M. 2001.** Species and organ specificity of fumonisin-induced endothelial alterations: potential role in porcine pulmonary edema. *Toxicology*. 160: 71-79.
- 6 **Haschek W. M., Motelin G., Ness D. K., Harlin K. S., Hall W. F., Vesonder R. F., Peterson R. E. & Beasley V. R. 1992.** Characterization of fumonisin toxicity in orally and intravenously dosed swine. *Mycopathologia*. 117: 83-86.

- 7 **Pont J.G., Jordana J.A.J., Campanera J.M.P. & Arroyo T. R. 1989.** El problema de la contaminación fúngica en la industria de piensos. Barcelona: Ed. Lucta, 199 p.
- 8 **Ramasamy S., Wang E., Hennig B. & Merrill Jr. A. H. 1995.** Fumonisin B1 alters sphingolipid metabolism and disrupts the barrier function of endothelial cells in culture. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 133: 343-348.
- 9 **Riley R. T., An N. H., Showker J. L., Yoo H. S., Norred W. P., Chamberlain W. J., Wang E., Merrill Jr. A. H., Motelin G., Beasley V. R. & Haschek W. M. 1993.** Alteration of tissue and serum sphinganine to sphingosine ratio: an early biomarker of exposure to fumonisin-containing feeds in pigs. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 118: 105-112.
- 10 **Sabbadini R. A., Betto R., Teresi A., Fachechi-Cassano G. & Salviati G. 1992.** The effects of sphingosine on sarcoplasmic reticulum membrane calcium release. *The Journal of Biological Chemistry*. 267: 15475-15484.
- 11 **Santurio, J.M. 2002.** Avanços no controle das micotoxinas em suinocultura. In: *I Congresso Latino-americano de Suinocultura* (Foz do Iguaçu, Brasil). pp.111-120.
- 12 **Smith G.W., Constable P.D., Bacon C.W., Meredith F.I. & Haschek W.M. 1996.** Cardiovascular effects of fumonisins in swine. *Fundamental and Applied Toxicology*. 31: 169-172.
- 13 **Smith G.W., Constable P.D., Tumbleson M.E., Rottinghaus G.E. & Haschek W.M. 1999.** Sequence of cardiovascular changes leading to pulmonary edema in swine fed culture material containing fumonisin. *American Journal of Veterinary Research*. 60: 1292-1300.
- 14 **Wang E., Norred W.P., Bacon C.W., Riley R.T. & Merrill Jr. A.H. 1991.** Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisins. Implications for diseases associated with *Fusarium moniliforme*. *The Journal of Biological Chemistry*. 266: 14486-14490.
- 15 **Zomborszky-Kovacs M., Vetesi F., Horn P., Repa I. & Kovacs F. 2002.** Effects of prolonged exposure to low dose fumonisin B1 in pigs. *Journal of Veterinary Medicine. B Infectious Diseases and Veterinary Public Health*. 49: 197-201.

