

**ESTUDO RETROSPECTIVO DE LESÕES EM ENCÉFALO DE BOVINOS NO
SERVIÇO DE PATOLOGIA VETERINÁRIA DA FMVZ-UNESP**

RETROSPECTIVE STUDY OF BRAIN LESIONS IN BOVINES AT THE VETERINARY
PATHOLOGY SERVICE, FMVZ-UNESP

BARROS Claudenice Batista de ¹, MACHADO Isamery Auxiliadora de Sarmiento ^{1,2},
KOBAYASHI Priscila Emiko ¹, PAES Antonio Carlos ³, SCARELLI Sarah Paschoal ¹, ROCHA
Noeme Sousa ¹

¹Departamento de Clínica Veterinária (Serviço da Patologia) FMVZ UNESP, Botucatu-SP, Brasil.

²Departamento de Producción Animal IPA-UCV, Maracay Aragua, Venezuela ³Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública FMVZ UNESP, Botucatu-SP, Brasil. **Corresponding author:** Departamento de Clínica Veterinária (Serviço da Patologia) FMVZ UNESP. Distrito de Rubião Júnior, s/n, 86189701, Botucatu-SP, Brasil. **E-mail Address:** isamerymachado@yahoo.com

RESUMO

As encefalites são lesões inflamatórias de encéfalo causadas por agentes, priônicos, virais, bacterianos, parasitários e outros não infecciosos. Alguns dos agentes são responsáveis por zoonoses e impactam diretamente na saúde pública. Foi realizado um estudo retrospectivo em 703 necropsias de bovinos no Serviço de Patologia Veterinária, Hospital Veterinário UNESP, Botucatu, SP desde janeiro 2002 até dezembro 2012. Dos 703 bovinos examinados, 132 (18%) amostras foram enviadas para o diagnóstico de Raiva, resultando seis (4,5%) positivas. Destas 5 eram fêmeas e de raças de corte. Das 132, 24 (20%) foram identificadas com diagnóstico definitivo doenças neurológicas. A análise histopatológica revelou congestão como lesão mais frequente, seguida de gliose (42%), edema (38%) e satelirose (36%).

Palavras Chave: Bovino, Doenças neurológicas, Raiva, Histopatologia, Saúde Pública

ABSTRACT

Encephalitis is an inflammatory lesion of the brain caused by prion, viral, bacterial, parasitic and other non-infectious agents. Some of them are accountable for zoonosis affecting directly public health. A retrospective study was carried out on 703 bovine necropsies performed from January

2002 to December 2012 at the Veterinary Pathology Service at the Veterinary Hospital of UNESP, Botucatu. Of the total sample, 132 (18%) went through rabies test resulting 6 (4.5%) positive, 5 females and one breed cut. 24 (20%) of tested specimens showed evident neurological diseases. The histopathological analysis revealed congestion as the most frequent lesion, followed by gliosis (42%), edema (38%) and sateliosis (36%).

Key words: Bovine, Neurological diseases, Rabies, Histopathology, Public Health.

INTRODUÇÃO

A importância do estudo das doenças caracterizadas por sintomatologia nervosa aumentou a partir de 1986 com o surgimento da encefalopatia espongiforme dos bovinos resultando na crescente preocupação com as implicações econômicas, políticas, sanitárias e de saúde pública. Autoridades sanitárias internacionais estão solicitando dos países exportadores de carne que apresentem evidências de que seus rebanhos estão livres da doença (Wells et al., 1987, Little e Torsen 1989; Prince et al., 2009; Adkin et al., 2016).

A encefalopatia espongiforme bovina clássica (EEB) é uma doença fatal zoonótica que afeta o cérebro e sistema nervoso do gado bovino (Wells e Wilesmith, 2004). No Brasil, dois casos de EEB atípica foram notificados, o primeiro em dezembro de 2012, ocorrido no estado do Paraná, e o segundo no Mato Grosso, em maio de 2014, por serem atípicos onde o Brasil mantém sua classificação de risco insignificante para a EEB (Sordi e Lewgoy, 2013; MAPA, 2014; Fusuma, 2014).

A raiva é uma encefalite viral aguda e progressiva (Família Rhabdoviridae, gênero *Lyssavirus*) e continua sendo uma das mais antigas e mais importantes zoonoses de origem viral (Rupprecht et al., 2011; Ellison et al., 2013; Castilho et al., 2017).

Existem outras doenças que acometem o encéfalo de bovinos que causam perdas econômicas e são importantes diagnósticos diferenciais da raiva e da EEB. Dentre elas, destacam-se algumas doenças inflamatórias como: meningoencefalite causada pelo herpesvírus bovino 5 (Rissi et al., 2006; Ferrari et al., 2007; Pedraza-Ordóñez et al., 2013); febre catarral maligna (FCM) (Rech et al., 2005; Gasper et al., 2012); doença de Aujeszky; listeriose; e doenças degenerativas como a polioencefalomalacia (PEM). Como diagnóstico diferencial de raiva e EEB ainda podem ser citadas a encefalopatia hepática, que apesar de não apresentar lesões inflamatórias pode ser clinicamente semelhante à raiva, e doenças causadas por

protozoários, destacando-se a babesiose cerebral (Rodriguez et al., 2005; Guimarães et al., 2011; Ribas et al., 2013).

Intoxicações por plantas como *Ipomoea carnea*, *Ipomoea asarifolia*, *Prosopis juliflora*, *Sida carpinifolia*, *Solanum fastigiatum*, e *Phalaris spp.*; doenças carenciais e metabólicas; assim como aquelas causadas por bactérias botulismo e tétano; são importantes diagnósticos diferenciais de doenças que afetam o encéfalo, pela apresentação de sintomatologia neurológica (Ribas et al., 2013).

Nesse contexto, a investigação de lesões no encéfalo de bovinos, bem como, evolução clínica desses animais é de significativa importância, pela sua elevada prevalência, como também distinção entre as diferentes doenças neurológicas dos bovinos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram selecionadas e analisadas 703 fichas de necropsias de bovino com histórico clínico de distúrbios neurológicos examinados no Serviço de Patologia Veterinária da FMVZ-UNESP, campus Botucatu-SP, no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2012. Desses casos foram selecionados 134 casos que apresentaram suspeita de Raiva e tiveram amostras do encéfalo submetidas às provas de imunofluorescência direta (IFD) e inoculação em camundongos (IC).

A análise foi realizada a partir das observações em telencéfalo (córtex occipital) e diencéfalo (córtex parietal, hipocampo e tálamo), as demais regiões não foram incluídas nesse estudo porque alguns protocolos não seguiam a metodologia preconizada no “Manual de procedimento para diagnóstico para doenças do sistema nervoso central de bovinos” do sistema nacional de vigilância para as Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis – EET do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, visto que o período deste estudo encontra-se em meados da elaboração e publicação.

Do material revisado foram separadas as lâminas histológicas com coloração de hematoxilina e eosina (HE) para observação e caracterização das alterações encontradas na área do encéfalo.

RESULTADOS

Dos 703 bovinos examinados, 132 (18,7%) tiveram amostras encaminhadas para prova biológica de diagnóstico de Raiva e destas 6 (4,5 %) tiveram resultado positivo. As lâminas apresentaram alterações histológicas caracterizadas por infiltrado perivascular moderado de células mononucleares, bem como gliose multifocal, necrose neuronal, e por vezes,

neuronofagia. Além disso, 2 (33,3%) apresentaram em sua avaliação histopatológica a presença de corpúsculo de inclusão intracitoplasmático (corpúsculo de Negri) Figura 1, 2.

Dos 132 casos analisados 24 (18,19%) tiveram como diagnóstico definitivo doenças que apresentaram lesão no encéfalo, 89 (67,42%) doenças que não apresentam lesão em encéfalo e 19 (14,39%) não foi possível estabelecer diagnóstico definitivo sendo denominados inconclusivos.

Dentro do conjunto de inflamações linfoplasmocíticas sem agente etiológico definido há 7 casos (5,3%).

A análise das lâminas revelou congestão (76%) como a alteração com maior frequência, seguido de gliose (42%), edema (38%), satelirose (36%) e manguito mononuclear (24%).

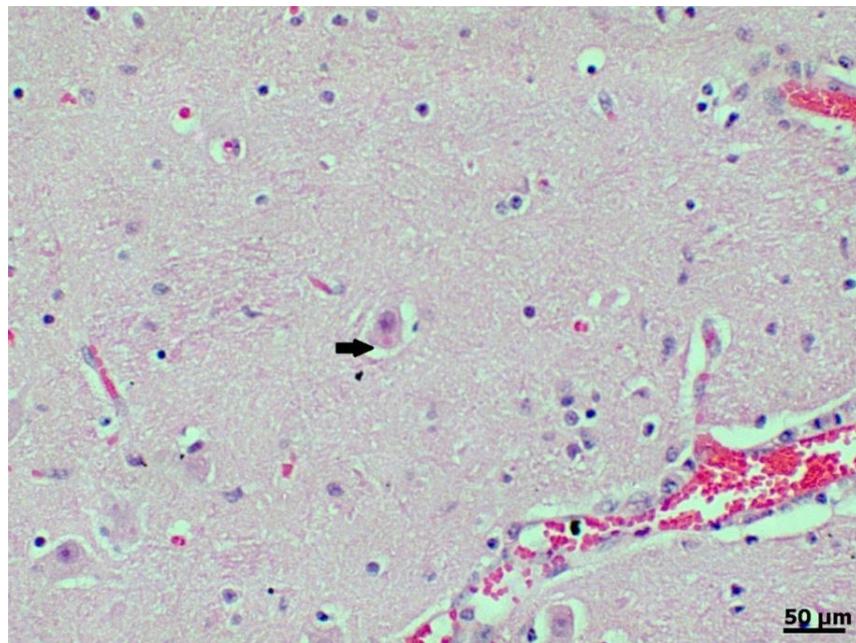


Figura 1: seta corpúsculo de Negri em córtex telencefálico de bovino com Raiva.HE. 40x

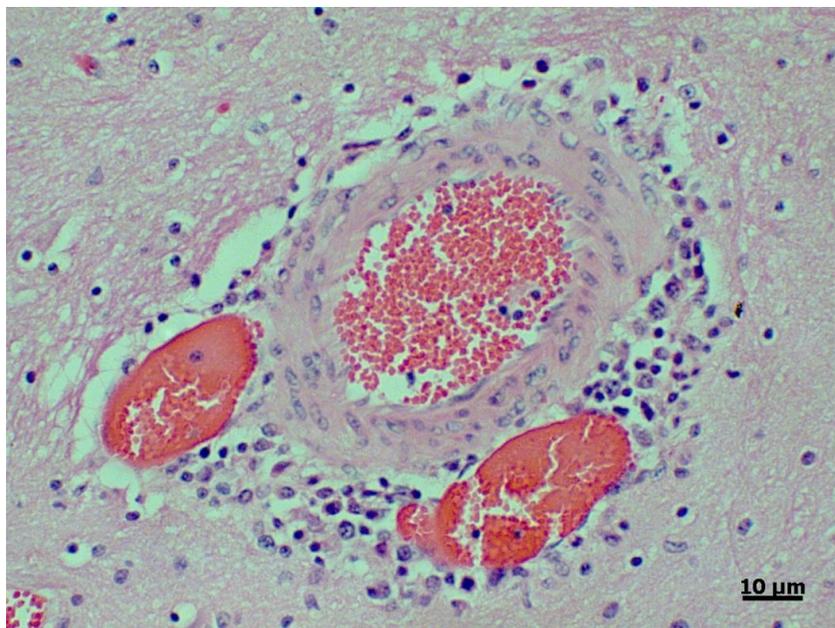


Figura 2: Infiltrado perivascular mononuclear e congestão. Córtex telencefálico de bovino com Raiva. HE.40x.

DISCUSSÃO

Os resultados do presente trabalho demonstram que as alterações mais frequentes observadas na casuística do Serviço de Patologia relacionadas ao SNC de bovinos caracterizam-se por inflamação linfoplasmocítica, que indica processos infecciosos com provável origem viral. Para melhor caracterizar os aspectos epidemiológicos dessas enfermidades faz-se necessário o uso de técnicas mais específicas, quando comparadas à histopatologia de rotina (HE), para que o diagnóstico etiológico seja alcançado.

Das 132 amostras enviadas ao Serviço de Diagnóstico de Zoonoses para a prova biológica de raiva, 24 (18,19%) apresentaram como diagnóstico final doenças de ordem neurológica, das quais 6 (4,5 %) tiveram resultado positivo para raiva. No Brasil Rissi et al. 2010 realizou um estudo das principais doenças nervosas em ruminantes e equinos, e dos 501 bovinos foram encontrados 197(39,32%) animais positivos para raiva. Uma pesquisa similar realizada por Ribas et al. (2013) com 588 bovinos que apresentavam histórico de sinais clínicos neurológicos 341 (53,75%) tiveram diagnóstico correspondente a doenças neurológicas, e determinaram 15,92% com raiva.

A raiva representa uma importante doença devido ao seu caráter zoonótico, além de ser responsável por perdas significativas de rebanhos (MAPA, 2009), sendo que em bovinos é

indistinguível clinicamente de outras encefalites, o que foi atestado pela análise dos históricos clínicos deste trabalho, pois somente a observação destas alterações não foi considerada suficiente para confirmar a doença, portanto, o apoio laboratorial é indispensável para o diagnóstico conclusivo.

Os resultados dos testes que foram analisados no presente estudo (IFD e IC) confirmam a suspeita inicial e justificam-se pelos relatos clínicos de alteração neurológica, bem com os achados histopatológicos. A visualização dos corpúsculos de Negri em microscopia de luz através de lâminas coradas em HE foi de (33,3 %) menos frequente quando comparado à análise feita por Langohr (2003) o qual realizou um estudo com 25 encéfalos bovinos com raiva e observou 17(68%) com essa lesão patognomônica. Em um estudo retrospectivo, referente às doenças do SNC de bovinos e equinos, Rissi et al. (2010) observaram meningoencefalite não-supurativa, inclusões eosinofílicas intracitoplasmática em neurônios, hiperemia dos vasos meningeais em 50% dos casos e presença de corpúsculos de Negri. No estado de Minas Gerais Oliveira et al. 2012 em pesquisa de bovinos que apresentavam síndrome nervoso relataram em seu achados microscópicos corpusculo de Negri em célula de Purkinle de cerebelo em 36,6%. e presença de infiltrado inflamatório não supurado, intenso manguito perivascular.

Em análise filogenética em estudo realizado no São Paulo, Brasil os pesquisadores observaram que as linhagens genéticas virais identificadas em todas as amostras de Cão e gato estão associados aquelas que circulavam em morcegos brasileiros, demonstrando a importância destes na transmissão da raiva em animais domésticos (Castilho et al., 2017). Duas notícias foram publicadas referente a raiva no transcurso do ano 2017 nos jornais. Notificou-se morte por raiva duma mulher de 36 anos de idade, ferida por um gato em um Pet Shop em Recife estado de Pernambuco, localizado na Região Nordeste do Brasil. O laudo do exame mostrou que o vírus encontrado em Adriana é de origem silvestre (cepa 3), proveniente de um morcego hematófago. Ataque em Salvador de morcegos vampiros deixa um homem morto e 40 pessoas estão recebendo tratamento para prevenção da raiva.

Novas técnicas facilitam o diagnóstico conclusivo destas doenças. A detecção de ácidos nucleicos tem sido empregada tanto para pesquisa quanto para o diagnóstico de raiva. Várias técnicas têm sido empregadas para este fim, como hibridização *in situ*, RT-PCR e PCR *in situ* (Tobiume et. al., 2009). Vigilância em condições de campo usando técnicas termográficas para

determinar a temperatura facial dos morcegos com suspeita de raiva poderia fornecer maior informação, sendo de utilidade para a detecção desses patógenos (Ellison et al., 2013).

A ocorrência desses casos, evidencia a necessidade de fortalecer as medidas de vigilância e avaliação de risco. O conhecimento dos agentes causais contribui para o estabelecimento de medidas de prevenção e controle mais efetivos dessas infecções, buscando minimizar possíveis prejuízos sobre a cadeia produtiva e principalmente risco sob saúde pública.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho descreveu as principais enfermidades neurológicas de bovinos na rotina do Serviço de Patologia do Hospital Veterinário da Unesp Campus de Botucatu. Pôde-se verificar que as doenças de origem inflamatória, possivelmente de etiologia viral, apresentam grande incidência regional. Desta forma são necessários novos estudos, especialmente prospectivos, empregando métodos de diagnósticos específicos objetivando determinar a etiologia das encefalites linfoplasmocíticas na região.

Também é importante salientar que e nos materiais examinados não foram observadas lesões sugestivas de Encefalopatia Espongiforme Bovina.

O número de diagnósticos inconclusivos pode ser reduzido consideravelmente pela coleta sistemática de dados epidemiológicos e clínicos, a interpretação correta dos achados de necropsia, o e envio de materiais adequados para a realização de exames laboratoriais, assim como os procedimentos preconizados pelo manual de controle e vigilância de Encefalopatia Espongiformes Transmissíveis do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.

AGRADECIMENTO

Os autores deste artigo reconhecem as agências de financiamento CAPES, FAPESP, CNPq e principalmente a professores e administrativo da UNESP.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADKIN A., SIMONS R., ARNOLD M. Assessing the sensitivity of European surveillance for detecting BSE in cattle according to international standards. *Prev. Vet. Med*, v. 135p.113–122, 2016.

BRASIL exames confirmam que moradora do Recife morreu por causa de raiva humana. Disponível em:<http://g1.globo.com/peernambuco/noticia/exames-confirmam-que-moradora-do-recife-morreu-por-causa-de-raiva-humana.ghtml> > Acesso em 03 jul. 2017.

BRASIL aumentam casos de ataques de morcego a humanos em Salvados. Disponível em: <http://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2017-05/aumentam-casos-de-ataques-de-morcego-humanos-em-salvador>> Acesso em 17 jun. 2017.

CASTILHO J. G., DE SOUZA D. N., OLIVEIRA R. N., CARNIELI JR P., BATISTA H. B. C. R., PEREIRA P. M. C., ACHKAR S. M., MACEDO C. I. The Epidemiological Importance of Bats in the Transmission of Rabies to Dogs and Cats in the State of Sao Paulo, Brazil, Between 2005 and 2014. *Zoonoses and Public Health*, v. 64, p. 423–430, 2017.

ELLISON J. A., JOHNSON S. R., KUZMINA N., GILBERT A., CARSON W. C., VERCAUTEREN K. C. RUPPRECHT C. E. Multidisciplinary Approach to Epizootiology and Pathogenesis of Bat Rabies Viruses in the United States. *Zoonoses and Public Health*, v. 60, p. 46–57, 2013.

FERRARI H.F., LUVIZOTTO M.R.C., RAHAL, P., CARDOSO T.C. Detection of bovine *Herpesvirus* type 5 in formalin-fixed, paraffin-embedded bovine brain by PCR: a useful adjunct to conventional tissue-based diagnostic test of bovine encephalitis. *Journal of Virological Methods.*, v.146, p.335–340, 2007.

FUSUMA, M. M.; *Vigilância epidemiológica de doenças do sistema nervoso central em bovinos: diagnóstico do herpesvírus bovino*. 2014. 108f. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) – Instituto Biológico, São Paulo 2014.

GASPER D., BARR B., LI H., TAUS N., PETERSON R., BENJAMIN G., HUNT T., PESAVENTO P. A. Ibex-associated malignant catarrhal fever-like disease in a group of bongo antelope (*Tragelaphus eurycerus*). *Vet Pathol*, v. 49, n. 3, p. 492-497, 2012.

GUIMARÃES A. M., OLIVEIRA CARVALHO A. H., DAHER D. O., DA ROCHA C. M. B., HIRSCH C. Soroprevalência e fatores de risco para *Babesia bovis* em Rebanhos Leiteiros na Região Sul de Minas Gerais, Brasil. *Ciênc. agrotec.*, Lavras, v. 35, n. 4, p. 826-832, 2011.

LANGOHR I.M., IRIGOYEN L.F.; LEMOS, R.A.A.; BARROS, C.S.L. Aspectos epidemiológicos, clínicos e distribuição das lesões histológicas no encéfalo de bovinos com raiva. *Ciência Rural*, v. 33, p.125-131, 2003.

LITTLE P, THORSEN J. Bovine Spongiform encephalopathy. *Can Vet J* v., 30, p. 712-714, 1989.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Controle da raiva dos herbívoros: manual técnico 2009. Brasília, 2009. 124p.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Sistema Brasileiro de Prevenção e Vigilância da Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB) Brasília, 2014. 15p.

OLIVEIRA T. S., BULL V., REZENDE C. A., FURTINI R., COSTA E. A., PAIXÃO T. A., SANTOS R. L. Perfil das amostras do sistema nervoso central de bovinos com síndrome neurológica e diagnóstico da raiva bovina no serviço de defesa sanitária de Minas Gerais, 2003-2010. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v.32, n.4, p.333-339, 2012.

PRINCE M. J., BAILEY J. A., BARROWMAN P. R., BISHOP K. J., CAMPELL G.R., WOOD J. M. Bovine spongiform encephalopathy. *Journal of American Veterinary Association*, v. 234, n.1, p.59-72, 2009.

PEDRAZA-ORDOÑEZ F., YAMATOOGI R.S., ARAUJO JR. J.P., ROCHA N.S., ALESSI A.C. The use of real time PCR (qPCR) for the diagnosis of bovine herpesvirus 5 in formalin-fixed, paraffin-embedded bovine brain samples identified as bovine unspecific encephalitis. *Journal of Veterinary Science & Technology*, v. 4, n. 5, p. 1-5, 2013.

RECH R. R., SCHILD A. L., DRIEMEIER D, GARMATZ S. L., OLIVEIRA F. N., RIET-CORREA F., BARROS C.S.L. Febre catarral maligna em bovinos no Rio Grande do Sul: epidemiologia, sinais clínicos e patologia. *Pesq. Vet. Bras*, v.25, n.2, p. 97-105, 2005.

RIBAS N.L.K.S., CARVALHO R.I., SANTOS A.C., VALENÇOELA R.A., GOUVEIA A.F., CASTRO M.B., MORI A.E. & LEMOS R.A.A. Doenças do sistema nervoso de bovinos no Mato Grosso do Sul: 1082 casos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 33, n.10, p.1183-1194, 2013

RISSI, D.R.; OLIVEIRA, F.N.; RECH, R.R.; PIEREZAN, F.; LEMOS,R.A.A. & BARROS, C.S.L. Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. *Pesq. Vet. Bras.*, v.26, n.1, p. 123-132, 2006.

RISSI D. R., PIEREZAN F., OLIVEIRA-FILHO J.C., LUCENA R.B., CARMO P.M.S., BARROS C.S.L. Abordagem diagnóstica das principais doenças do sistema nervoso de ruminantes e equinos no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 30, n.11, p.958-967, 2010.

RODRIGUES A., RECH R.R., BARROS R. R., FIGHERA R. A., BARROS C. S. L. Babesiose Cerebral em Bovinos: 20 casos. *Ciência Rural*, v.35, p.121-125, 2005.

RUPPRECHT C. E., TURMELLE A., KUZMIN I. V. A perspective on lyssavirus emergence and perpetuation. *Curr. Opin. Virol*, v. 1, p. 662–670, 2011.

SORDI C, LEWGOY B. O que pode um prion? O caso atípico de Vaca Louca no Brasil e seus desdobramentos. *Revista Antropológicas*, v. 24, n. 1: 126-143, 2013.

TOBIUME M., SATO Y., KATANO H., NAKAJIMA N., TANAKA K., NOGUCHI A., INOUE S., HASEGAWA H., IWASA Y., TANAKA J., HAYASHI H., YOSHIDA S., KURANE I., SATA T. Rabies virus dissemination in neural tissues of autopsy cases due to rabies imported into Japan from the Philippines: immunohistochemistry. *Pathol Int*, v.59, n. 8, p.555-566, 2009.

WELLS G.A., SCOTT A.C., JOHNSON C.T., GUNNING R.F., HANCOCK R.D., JEFFREY M., DAWSON M., BRADLEY R. A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. *Vet Rec*, v.121, n.18: 419-420, 1987.

WELLS G.A.H., WILESMITH J.W., 2004. Bovine spongiform encephalopathy and related diseases. In: Prusiner, Stanley (Ed.), *Prion Biology and Diseases*. , 2nd edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, pp. 595–628.

