

RESUMO

A maioria das técnicas aplicáveis no diagnóstico de raiva bovina são amplamente conhecidas, assim como as lesões que a doença causa no sistema nervoso dos animais afetados, contudo os fatores que podem influenciar na eficácia dos métodos de diagnóstico e na intensidade das lesões histológicas são poucos discutidos. Esta tese propôs estudar a sensibilidade dos métodos de diagnóstico de raiva em bovinos mortos naturalmente e eutanasiados e a influência da evolução clínica, linhagem genética do vírus e quantificação viral no surgimento das lesões histológicas. Para isso foram coletadas, no Estado de Santa Catarina, amostras de encéfalos de bovinos naturalmente infectados pelo vírus da raiva, mortos naturalmente ou eutanasiados para exame. Os bovinos foram divididos em quatro grupos: Animais eutanasiados em estação, eutanasiados em decúbito esternal, eutanasiados em decúbito lateral e morte espontânea. Para as análises da influência da eutanásia no diagnóstico de raiva bovina, amostras de cerebelo, tronco e córtex dos diferentes grupos foram submetidas a imunofluorescência direta (IFD), imuno-histoquímica (IHQ), citologia com Shorr e histopatologia com Hematoxilina e Eosina (HE) sendo avaliada a positividade de cada teste. Todas as técnicas de diagnóstico apresentaram casos positivos em todos os grupos analisados. Cada caso foi positivo em pelo menos dois métodos de diagnóstico, independente do estágio evolutivo da doença. A IHQ foi positiva em 100% dos casos, seguido pela IFD em 97%, HE 91% de positivos e Shorr 79%. Todos os casos que continham Corpúsculos de Negri foram positivos para raiva nos demais testes. A eutanásia em estágios evolutivos precoce da doença não comprometeu a eficácia da IFD e da IHQ. Para estudar os parâmetros que influenciam a intensidade da lesão inflamatória e a presença de corpúsculos de Negri, as amostras de sistema nervoso central (SNC) coletadas foram divididas em 11 áreas de análise histológicas coradas por HE. A intensidade de lesões foi graduada como ausentes, leve, moderado e acentuado e os corpúsculos de Negri em presentes ou ausentes. Um pool contendo amostras de cerebelo, tronco encefálico e córtex foram submetidas ao isolamento viral com avaliação da filogenia e análise da carga viral por Reação da Polimerase em Cadeia por Transcriptase Reversa (RT-PCR). com avaliação da filogenia e análise da carga viral por RT-PCR. Em todos os grupos analisados observaram-se lesões histológicas que variaram de leve a acentuado. As regiões encefálicas com maior intensidade de lesão inflamatória foram o óbex, seguido pelo colículo e tálamo. Os corpúsculos de Negri foram observados em maior porcentagem no cerebelo, óbex, complexo estriado e córtex frontal. A evolução clínica da doença não influenciou na intensidade de lesão inflamatória, mas influenciou a presença dos corpúsculos de Negri, que foram observados mais frequentemente em bovinos mortos naturalmente. Todas as amostras RABV detectadas apresentam linhagem genética característica de morcegos hematófagos *D. rotundus*. Das 31 amostras coletadas 9 amplificaram, e nessas análises a quantidade de vírus não teve relação com a média da intensidade de lesão, a evolução clínica da doença e presença do corpúsculo de Negri.

Palavras chaves: Raiva bovina. Diagnóstico laboratorial. Eutanásia. Histologia.

REFERÊNCIAS

ABREU, C. C. et al. Domestic microwave processing for rapid immunohistochemical diagnosis of bovine rabies. **Histology and Histopathology**, [Espanha], v. 27, n. 9, p. 1227-1230, set. 2012.

ACHKAR, S. M. et al. Sensibilidade da técnica de Imunohistoquímica em fragmentos de sistema nervoso central de bovinos e equinos naturalmente infectados pelo vírus da raiva. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [Seropédica], v. 30, n. 3, p. 211-218, mar. 2010.

ALBERTINI, A. A.; RUIGROK, R. W.; BLONDEL, D. Rabies virus transcription and replication. **Advances in Virus Research**, [Amsterdã], v. 79, p. 1–22, dez. 2011.

APPOLINÁRIO, C. et al. Fluorescent antibody test, quantitative polymerase chain reaction pattern and clinical aspects of rabies virus strains isolated from main reservoirs in Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, [Amsterdã], v. 19, n. 5, p. 479-485, set./out. 2015.

BAGÓ, Z.; REVILLA-FERNANDEZ, S.; ALLERBERGER, F. Value of Immunohistochemistry for rapid ante mortem rabies diagnosis. **Intenacional Journal of Infectious Diseases**, [Oxford], v. 9, p. 351-352, 2005.

BARROS, C. S. L. et al. **Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil**. São Paulo: Vallée. 2006. p. 21-28.

BASSUINO, D.M. et al. Characterization of spinal cord lesions in cattle and horses with rabies: the importance of correct sampling. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. [California], v. 28. 4. ed. p.455-460, jul. 2016

BECK, S. et al. Pathobiological investigation of naturally infected canine rabies cases from Sri Lanka. **BMC Veterinary Research**, [Londres], v. 13, n. 99, p. 1-9, abr. 2017.

BEIGH, A. B. et al. Comparative evaluation of clinicopathological, immunohistochemical, and immunofluorescent techniques for diagnosis of rabies in animals. **Comparative Clinical Pathology**, [Nova Iorque], v. 24, n. 5, p. 1177–1184, jan. 2015.

BLANTON, J. D. et al. Rabies surveillance in the United States during 2008. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, [Schaumburg], v. 235, n. 6, p. 676–689, set. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. **Controle de Raiva em Herbívoros: manual técnico 2009**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 124p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. **Departamento de Saúde Animal**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. **Ministério da Saúde, Raiva: situação epidemiológica, 2018**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2018.

BURTON, E. C. et al. Rabies encephalomyelitis: clinical, neuroradiological and pathological findings in 4 transplant recipients. **Archives of Neurology**, [Chicago], v. 62, n. 6, p. 873-882, jun. 2005.

CARNIELI, P. et al. Molecular epidemiology of *rabies virus* strains isolated from wild canids in Northeastern Brazil. **Virus Research**, [Amsterdã], v. 120, n. 1/2, p. 113-120, set. 2006.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. **Resolução nº 714, de 20 de junho de 2002**. Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais, e dá outras providências. Brasília, DF, 2002.

DIRETORIA de Vigilância Epidemiológica. Situação epidemiológica da raiva no estado de Santa Catarina. Florianópolis: Secretaria de Estado da Saúde Sistema Único de Saúde Superintendência de Vigilância em Saúde Diretoria de Vigilância Epidemiológica. 2012. Disponível em:
<http://www.dive.sc.gov.br/conteudos/zoonoses/canideos_felinos/Situacao_Raiva_SC.pdf>. Acesso em: 27 nov. 2012.

DIRETORIA de Vigilância Epidemiológica. Alerta Epidemiológico. Florianópolis: Secretaria de Estado da Saúde Sistema Único de Saúde Superintendência de Vigilância em Saúde Diretoria de Vigilância Epidemiológica. 2016. Disponível em:
<http://www.dive.sc.gov.br/conteudos/publicacoes/AlertaEpidemiologico%20RaivaCanina_%2023_09.pdf>. Acesso em: 09 ago. 2018.

ESCOBAR, L. E. et al. Ecology and geography of transmission of two bat-borne rabies lineages in Chile. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, [California], v. 7, n. 12, p. 1-10, dez. 2013.

FAIZEE, N. et al. Pathological, Immunological and Molecular Diagnosis of Rabies in Clinically Suspected Animals of Different Species Using Four Detection Techniques in

Jordan. **Transboundary and Emerging Diseases**, [Hoboken], v. 59, n. 2, p. 154-164, abr. 2012.

FERNANDES, C.G.; RIET-CORREA, F. Raiva. In: RIET-CORREA, F. et al. (Eds), **Doenças dos Ruminantes e Equídeos**. v. 1. 3. ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. p. 184-198.

FERREIRA, R. S. et al. Bovine rabies incidence in the state of Minas Gerais/Brazil, between 2002 and 2006. **Arquivos do Instituto Biológico**, [São Paulo], v. 79, n. 2, p. 287-291, abr./jun. 2012.

FITZPATRICK, M. C. et al. Potential for rabies control through dog vaccination in wildlife-abundant communities of Tanzania. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, [California], v. 6, n. 8, p. 1-6, ago. 2012.

GERMANO, P. M. L. et al. Estudo comparativo entre as técnicas de coloração de Sellers, imunofluorescência direta e inoculação em camundongos, aplicadas ao diagnóstico laboratorial da raiva canina. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária**, [São Paulo] v. 14, n.1, p. 133-141, 1977.

GREENE, C. E.; RUPPRECHT, C. E. Rabies and other lyssavirus infections. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. v. 1, 4.ed. Saint Louis: Elsevier Saunders, 2006. p. 167-183.

HEALY, D. M. et al. Pathobiology of rabies virus and the European bat lyssaviruses in experimentally infected mice. **Virus Research**, [Amsterdã], v. 172, n. 1/2, p. 46-53, mar. 2013.

HEATON, P. R.; MCELHINNEY, L. M.; LOWINGS, J. P. Detection and identification of rabies and rabies related viruses using rapid - cycle PCR. **Journal of Virological Methods**, [Amsterdã], v. 81, n. 1/2, p. 63-69, ago. 1999.

HEMACHUDHA, T. et al. Human rabies: neuropathogenesis, diagnosis, and management. **Lancet Neurology**, [Reino Unido], v. 12, n. 5, p. 498-513, maio 2013.

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia Veterinária**. 6. ed. São Paulo: Manole, 2000. 1415 p.

KANITZ, F. A. et al. Virus isolation in cell culture for confirmatory diagnostic of rabies in bovine specimens. **Ciência Rural**, [Santa Maria], v. 45, n. 12, p. 2193-2196, dez, 2015.

LAHAYE, X. et al. Hsp70 protein positively regulates rabies virus infection. **Journal of Virology**, [Washington], v. 86, n. 9, p. 4743– 4751, maio 2012.

LANGOHR, I. M. et al. Aspectos epidemiológicos, clínicos e distribuição das lesões histológicas no encéfalo de bovinos com raiva. **Ciência Rural**, [Santa Maria], v. 33, n. 1, p. 125-131, jan./fev. 2003.

LEMBO, T. et al. Evaluation of a direct, rapid immunohistochemical test for rabies diagnosis. **Emerging Infectious Disease**, [Atlanta], v. 12, n. 2, p. 310-313, fev. 2006.

LIMA, E. F. et al. Sinais clínicos, distribuição das lesões no sistema nervoso e epidemiologia da raiva em herbívoros na região Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [Seropédica], v. 25, n. 4, p. 250-264, oct./dec. 2005.

MADHUSUDANA, S. N. et al. Evaluation of a Direct Rapid Immunohistochemical Test (dRIT) for rapid diagnosis of Rabies in Animals and Humans. **Virologica Sinica**, [Wuhan], v. 27 n. 5, p. 299-302, out. 2012.

MAXIE, M. G.; YOUSSEF, S. The nervous system. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY; P. C.; PALMER, N. **Pathology of Domestic Animals**, 4. ed, v. 1, San Diego: Academic Press, 2006. p. 267-439.

NAGARAJ, T. et al. Ante mortem diagnosis of human rabies using saliva samples: Comparison of real time and conventional RT-PCR techniques. **Journal of Clinical Virology**, [Londres], v. 36, n.1, p.17-23, maio 2006.

PAWESKA, J. T. et al. Fatal human infection with rabies-related Duvenhage virus, South Africa. **Emerging Infectious Disease**, [Atlanta], v. 12, n. 12, p. 1965-1967, dez. 2006.

PEDROSO, P. M. O. et al. Padronização da técnica de imuno-histoquímica para raiva em amostras de tecido do sistema nervoso central de bovinos fixadas em formol e emblocadas em parafina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [Seropédica], v. 28, n. 12, p. 627-632, dez. 2008.

RADOSTITS, O. M. et al. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, Caprinos e eqüinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737 p.

RODRIGUEZ, L. L. et al. **Virologia Veterinaria**, 1. ed. Santa Maria: Editora da UFSM, 2007. 888 p.

RUPPRECHT, C. E.; GIBBONS, R. V. Clinical practice. Prophylaxis against rabies. **New England Journal of Medicine**, [Waltham], v. 351, n. 25, p. 2626-2635, dez. 2004.

SANCHES, A. W. D. et al. Doenças do sistema nervoso central em bovinos no sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [Seropédica], v. 20, n. 3, p. 113-118, jul./set. 2000.

SCHAEFER, R. et al. Studies on antigenic and genomic properties of Brazilian rabies virus isolates. **Veterinary Microbiology**, [Amsterdã], v. 107, n. 3/4, p. 161-170, maio 2005.

SHARMA, P. et al. Diagnosis of rabies from brain: Comparison of histochemical and histopathological approaches. **Indian Journal of Veterinary Pathology**. [Mathura], v. 38, n. 4, p. 269-272, jan. 2014.

SHUANGSHOTI, S. et al. Reduced viral burden in paralytic compared to furious canine rabies is associated with prominent inflammation at the brainstem level. **BMC Veterinary Research**, [Londres], v. 9, n. 31, p. 1-11, fev. 2013.

SILVA, M. L. C. R. et al. Distribuição do vírus rábico no sistema nervoso central em ruminantes naturalmente infectados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [Seropédica], v. 30, n. 11, p. 940-944, nov. 2010.

SILVA, S. R. et al. Biotechnology advances: A perspective on the diagnosis and research of *Rabies Virus*. **Biologicals**, [Amsterdã], v. 41, n. 4, p. 217-223, jul. 2013.

SINGH, R. et al. Rabies – epidemiology, pathogenesis, public health concerns and advances in diagnosis and control: a comprehensive review. **Veterinary Quarterly**, [Londres], v. 37, n. 1, p. 212-251, dez. 2017.

SRINIVASAN, A. et al. Transmission of rabies virus from an organ donor to four transplant recipients. **New England Journal of Medicine**, [Waltham], v. 352, n. 11, p. 1103-1111, mar. 2005.

SUMMERS, B. A.; CUMMINGS, J.; DELAHUNTA, A. **Veterinary neuropathology**. 1. ed. Saint Louis: Mosby, 1995. 527 p.

SWANEPOEL, R. Rabies. In: COETZAR, J. A. W.; TUSTIN, R. C. (Eds), **Infectious Disease of Livestock**. v. 2, 2.ed. Reino Unido: Oxford University Press, 2004.

TEKKI, I. S. et al. Comparative assessment of seller's staining test (SST) and direct fluorescent antibody test for rapid and accurate laboratory diagnosis of rabies. **African Health Sciences**, [Uganda], v. 16, n. 1, p. 123-127, mar. 2016.

TIRAWATNPONG, S. et al. Regional distribution of rabies viral antigen in central nervous system of human encephalitic and paralytic rabies. **Journal of the Neurological Sciences**, [Amsterdã], v. 92, n. 1, p. 91-99, ago. 1989.

TSIANG, H. et al. Infection of cultured rat myotubes and neurons from the spinal cord by rabies virus. **Journal of Neuropathology & Experimental Neurology**, [Oxford], v. 45, n. 1, p. 28-42, jan. 1986.

WADA, M. Y.; ROCHA, S. M.; MAIA-ELKHOURY, A. N. S. Situação da raiva no Brasil, 2000 a 2009. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, [Brasília], v. 20, n. 4, p. 509-518, out./dez. 2011.

WANG, L. et al. Role of the blood-brain barrier in rabies virus infection and protection. **Protein & Cells**, [Heidelberg], v. 4, n. 12, p. 901-903, dez. 2013.

WISSER, C. S. **Imunocitoquímica no diagnóstico de raiva em bovinos e estudo retrospectivo**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2014.

WOLDEHIWET, Z. Clinical laboratory advances in the detection of rabies virus. **Clinica Chimica Acta**. [Nova Iorque], v. 351, n. 1-2, p. 49-63, jan. 2005.

WORLD Health Organization. Who Expert Consultation on Rabies. Geneva: World Health Organization. 2013. Disponível em:
<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/85346/1/9789241209823_eng.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2014.

YANG, D. K. et al. The present and future of rabies vaccine in animals. **Clinical and Experimental Vaccine Research**, [Coreia], v. 2, n. 1, p. 19-25, jan. 2013.

ZACHARY, J. F. Sistema Nervoso. In: McGAVIN, M. D; ZACHARY, J. F. **Bases da Patologia em Veterinária**. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. 1476 p.

ZHOU, H. et al. Probable Rabies Virus Transmission through Organ Transplantation, China, 2015. **Emerging Infectious Diseases**, [Atlanta], v. 22, n. 8, ago. 2016.

ZHU, S.; GUO, C. Rabies control and treatment: From prophylaxis to strategies with curative potential. **Viruses**, [Basileia], v. 8, n. 11, p. 1-23, nov. 2016.