

# OCORRÊNCIA DO VÍRUS DA RAIVA NA MEDULA E NO BULBO DE EQUINOS NA DOENÇA NATURAL E SUA AUSÊNCIA NAS DIFERENTES REGIÕES DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL E OUTROS TECIDOS<sup>1</sup>

RENATO AUGUSTO DA SILVA<sup>2</sup>, NORMA MORAES DA SILVA<sup>3</sup> e PAULO ROBERTO VALADÃO MENEZES<sup>4</sup>

**SINOPSE.**— São relatados dois casos de raiva natural em equinos, nos quais não se constatou vírus no cérebro e no cerebelo e sim, na medula de um e no bulbo de outro animal, conforme foi demonstrado pelos exames biológicos, histoquímicos e de anticorpos fluorescentes.

## INTRODUÇÃO

É sabido que na rotina de diagnóstico da raiva em bovinos e equinos, em nosso meio, utilizam-se com grande frequência os cérebros dos animais suspeitos e, em casos excepcionais, as glândulas salivares, ficando muito limitada a coleta das medulas, porque sua retirada durante os trabalhos de necropsia apresenta certa dificuldade. Entretanto, não fora a coleta de fragmentos da medula, em um dos casos estudados no presente trabalho, o diagnóstico de raiva não poderia ter sido firmado.

Justifica-se a divulgação do presente relato que inclui dois casos de infecção rábica espontânea em equinos, pelo fato de contribuir para a orientação dos que têm a seu cargo o diagnóstico laboratorial da raiva, como dos que estudam a patogenia desta infecção.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os casos apresentaram-se como são relatados a seguir e foram submetidos aos estudos adiante indicados.

### 1.º caso

Uma égua da raça Mangalarga, em adiantado estado de gestação, com quatro anos e meio de idade, pertencente a uma fazenda de criação situada no município de Vassouras, Estado do Rio de Janeiro, deu entrada no Instituto de Pesquisas Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS) no dia 26.5.72, apresentando apenas paralisia dos membros posteriores, não havendo, ao que tudo indicava, comprometimento cerebral. O animal ingeria os alimentos e bebia água normalmente, quando lhe eram aproximados.

No dia seguinte (27.5.72), a égua amanheceu morta, após um período de doença de 5 dias, e, à necropsia,

colheram-se os seguintes tecidos: cérebro, cerebelo, fragmentos de medula lombar e glândulas submaxilares e parótidas.

Do feto, com mais ou menos 9 meses, coletou-se o cérebro, cerebelo, bulbo e medula total, como também as glândulas sublinguais, submaxilares e parótidas, pulmões, coração, fígado, baço e rins.

### 2.º caso

Outra égua, com 8 anos de idade, procedente de uma fazenda em Barão do Amparo, município de Mendes, Estado do Rio de Janeiro, deu entrada no Instituto no dia 13.6.72, apresentando paralisia dos membros anteriores e posteriores, com movimentos de pedalagem, morrendo no dia 15.6.72. À necropsia, colheram-se os seguintes tecidos: cérebro, cerebelo, bulbo, fragmentos de medula dorsal e lombar, glândulas salivares (submaxilares, parótidas e sublinguais), córneas e as supra-renais.

Nestas regiões, é comum os animais serem atacados por morcegos hematófagos.

### Pesquisas realizadas

Lâminas com esfregaços das diferentes partes do sistema nervoso central foram preparadas para pesquisa de corpúsculos de Negri, empregando-se a técnica de Faraco (1938). Ao mesmo tempo, fizeram-se esfregaços de diversas seções do cérebro, cerebelo, bulbo e medula, como também das glândulas salivares para a prova de anticorpos fluorescentes (OMS 1967); a seguir, foram realizadas suspensões individuais a 20% em soro fisiológico a 0,85%, contendo penicilina e estreptomicina (1.000 U.I. e 1 mg por ml), para as provas biológicas de inoculação em camundongos lactentes (4 dias de idade) e adultos (13 gramas), pela via intracerebral, nas doses de 0,01 e 0,03 ml, respectivamente. Com exceção da medula, os outros componentes do sistema nervoso e demais órgãos foram totalmente utilizados no preparo das suspensões.

Com os tecidos fetais, os mesmos procedimentos foram seguidos, submetendo-se fragmentos do corno de Ammon, cerebelo e medula à técnica de Faraco. Impressões em lâminas para a prova de anticorpos fluorescentes foram realizadas das diferentes partes do sistema nervoso central, das glândulas salivares, do pulmão, coração, fígado, baço e rins. Finalmente, foram prepa-

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 2 de maio de 1974.

<sup>2</sup> Apresentado ao II Congresso Fluminense de Medicina Veterinária, 24 a 27 de julho de 1972, Niterói, RJ.

<sup>3</sup> Chefe da Seção de Virologia do Instituto de Pesquisas Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS), Regente da Disciplina de Virologia do Departamento de Biologia Vegetal do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Rio de Janeiro, GB, ZC-26, e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq).

<sup>4</sup> Veterinário da Seção de Virologia do IPEACS, Km 47, Rio de Janeiro, GB, ZC-26, e bolsista do CNPq.

<sup>5</sup> Veterinário da Seção de Virologia do IPEACS, contratado pela Associação Brasileira de Crédito e Assistência Rural.

radas suspensões a 20% em soro fisiológico dos diferentes tecidos para a inoculação em camundongos de 4 dias de idade, por via intracerebral.

### RESULTADOS

Os resultados das provas com os materiais provenientes das éguas estão expressos no Quadro 1, do qual não constam os materiais do feto por serem todos negativos para a raiva.

afirmam ser freqüente a falta de tais inclusões em equínos.

A ausência de vírus nos diferentes tecidos fetais, de um dos casos estudados, confirmada pelos resultados das provas de inoculação em camundongos e por imunofluorescência, falam a favor de não disseminação do vírus pela placenta neste caso. Sabe-se que o tipo de placenta dos equínos é o mesmo dos bovinos, isto é, tipo epitelio-corial, que impede a passagem de anticorpos do organismo materno para o fetal. No caso das partículas virais,

QUADRO 1. Resultados dos exames para a verificação do vírus rábico nos diferentes tecidos

| Equínos  | Materiais examinados   | Exames realizados |          |            |
|----------|------------------------|-------------------|----------|------------|
|          |                        | Faraco            | AF       | Inoculação |
| 1.º caso | Corno de Ammon         | Negativo          | Negativo | Negativo   |
|          | Córtex cerebral        | Negativo          | Negativo | Negativo   |
|          | Cerebelo               | Negativo          | Negativo | Negativo   |
|          | Medula espinal         | Negativo          | Positivo | Positivo   |
|          | Glândulas submaxilares | —                 | Negativo | Negativo   |
|          | Glândulas parótidas    | —                 | Negativo | Negativo   |
| 2.º caso | Corno de Ammon         | Negativo          | Negativo | Negativo   |
|          | Córtex cerebral        | Negativo          | Negativo | Negativo   |
|          | Cerebelo               | Negativo          | Negativo | Negativo   |
|          | Bulbo                  | Negativo          | Positivo | Positivo   |
|          | Medula espinal         | Negativo          | Negativo | Negativo   |
|          | Glândulas submaxilares | —                 | Negativo | Negativo   |
|          | Glândulas parótidas    | —                 | Negativo | Negativo   |
|          | Glândulas sublinguais  | —                 | Negativo | Negativo   |
|          | Glândulas supra-renais | —                 | Negativo | Negativo   |
|          | Córnea                 | —                 | Negativo | Negativo   |

#### 1.º caso

O 1.º caso apresentou os seguintes resultados:

- ausência de corpúsculos de Negri no sistema nervoso central da égua e do feto;
- ausência de antígeno viral rábico no cérebro, cerebelo e nas glândulas salivares, constatada pelas provas de anticorpos fluorescentes e inoculação em camundongos;
- presença de antígeno viral rábico na medula, evidenciada pelas provas de anticorpos fluorescentes e inoculação em camundongos, com período de incubação de 8 dias; no cérebro dos camundongos foi comprovada a presença de inúmeros corpúsculos de Negri pela técnica de Faraco e na prova de anticorpos fluorescentes, além da ocorrência destes corpúsculos, evidenciava-se quantidade apreciável de material antigênico rábico.

#### 2.º caso

No 2.º caso, os resultados obtidos foram:

- ausência de corpúsculos de Negri na córtex cerebral, corno de Ammon, cerebelo, bulbo e medula dorsal e lombar;
- presença de escasso material antigênico rábico no bulbo e ausência nas demais porções do sistema nervoso central, como também na córnea, glândulas salivares e supra-renais, pela prova de anticorpos fluorescentes;
- reprodução da raiva nos camundongos em que foi inoculada a suspensão de bulbo, com período de incubação de 12 dias; os cérebros dos camundongos revelaram corpúsculos de Negri e antígeno viral rábico, pelas técnicas de Faraco e anticorpos fluorescentes.

### DISCUSSÃO

No estudo desses dois casos de raiva natural em equínos, observou-se a ausência de corpúsculos de Negri em diferentes partes do sistema nervoso central. Em outras oportunidades tais corpúsculos têm sido visualizados com certa regularidade, o que contraria alguns tratadistas que

pelo menos em bovinos, para vírus de tamanho semelhante ao da raiva, isto não ocorre. Assim é que o vírus da doença de Aujeszky foi isolado de tecidos fetais de bovino em casos espontâneos da doença, por Silva e Gióvine (1966).

O fato de o vírus rábico estar presente somente na medula de um dos equínos e no bulbo do outro, com infecção rábica adquirida nas condições naturais de campo, por mordeduras de morcegos hematófagos, vem demonstrar o pouco que se conhece da patogenia desta virose. Schneider (1968), em condições experimentais de infecção periférica de animais de laboratório por um vírus rábico das ruas, divide em três fases a patogenia da raiva: a) o vírus chega ao sistema nervoso central, propagando-se ao longo do nervo melhor do que por via sanguínea; b) a multiplicação do vírus se faz na medula dorsal, através do gânglio espinal correspondente, atingindo posteriormente todo o sistema nervoso central; c) durante o período de incubação, o vírus se dispersa, partindo do sistema nervoso central para a periferia, e este processo se realiza por intermédio da célula de Schwann, contaminando-se todos os órgãos por esta via.

O isolamento de vírus da medula, com ausência nos outros componentes do sistema nervoso central, como também somente do bulbo, e não das outras regiões do sistema nervoso, mostram um novo aspecto da patogenia da doença. A prova de anticorpos fluorescentes, realizada em diferentes seções do cérebro, cerebelo e do próprio corno de Ammon, demonstrou total falta de antígeno viral rábico no 1.º caso, confirmada pela prova de inoculação em camundongos adultos e lactentes. No 2.º ca-

so, houve apenas a constatação do vírus rábico no bulbo e sua ausência nos demais tecidos nervosos. Como explicar a patogenia da infecção neste caso?

Em vista de tais achados, sugerimos, àqueles que têm a seu cargo o diagnóstico da raiva, a utilização de diferentes partes do sistema nervoso central, inclusive medula, para a confirmação laboratorial da raiva nos grandes animais.

Nos dois casos de raiva em equínos, estudados neste trabalho, não foi constatada a presença de vírus rábico nas glândulas salivares, parecendo, ao que tudo indica, que nas infecções rábicas nesta espécie o vírus não se propaga com facilidade neste tipo de tecido. De três casos anteriormente por nós diagnosticados, conseguimos em apenas um deles constatar vírus na glândula submaxilar. Reconhecemos que o número de animais trabalhados é pequeno para que se tirem conclusões definitivas, mas, em bovinos, temos obtido maior frequência de ocorrência de vírus nas glândulas salivares: de 22 casos positivos de raiva em bovinos, 15 apresentavam vírus nas glândulas salivares.

Schneider (1969) notificou o desenvolvimento de uma prova baseada no exame da córnea do animal raivoso pelo método de imunofluorescência. Com este método pôde diagnosticar a doença antes do aparecimento dos sintomas clínicos em mais de 70% dos camundongos

infectados no laboratório. Não encontramos vírus rábico nas córneas de um dos casos estudados, quando submetidas às provas de anticorpos fluorescentes e inoculação em camundongos. Em outras ocasiões temos obtido "cornea tests" positivos para bovinos e cães, examinados após a morte.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Dr. Carlos Hubinger Tokarnia, patologista da Seção de Anatomia Patológica do IPEACS, pela coleta do material estudado neste trabalho.

#### REFERÊNCIAS

- Faraco, J. 1938. Nova técnica para obtenção de esfregaços "por compressão e distensão" de partes do encéfalo, medula espinal, etc... para a pesquisa de corpúsculo de Negri (coloração rápida dos esfregaços pelo método de Mann). *Revta Biol. Hig., S. Paulo*, 98:90-96.
- Schneider, L.G. 1968. Pathogenesis of rabies infection of non nervous organs. 8<sup>me</sup> Congr. Int. Med. Trop. Mal., Téheran.
- Schneider, L.G. 1969. The cornea test, a new method for the intravitam diagnosis of rabies. *Zentbl. VetMed.*, 16B:24-31. (*Vet. Bull.* 39(9), Abstr. 3764)
- Silva, R.A. & Glóvine, N. 1966. Novos focos da doença de Aujeszky no Estado de Minas Gerais. IV. Transmissão placentária do vírus de Aujeszky na doença natural em bovinos. *Pesq. agropec. bras.* 1:73-74.
- Organization Mondiale de la Santé 1967. La rage. *Téchniques de laboratoire.* Monogr. 23, Genève.

ABSTRACT.- Silva, R.A.; Silva, M.M.da; Menezes, P.R.V. [*Occurrence of rabies virus in the medulla and medulla oblongata from naturally infected horses and the absence of the virus in other regions of the central nervous system and other tissues*]. Ocorrência do vírus da raiva na medula e no bulbo de equínos na doença natural e sua ausência nas diferentes regiões do sistema nervoso central e outros tecidos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, Série Veterinária* (1974) 9, 29-31 [Pt, en] IPEACS, Km 47, Rio de Janeiro, GB, ZC-26, Brazil.

Two cases of naturally occurring rabies infection in mares, with the occurrence of the rabies virus only in the medulla of one and in the medulla oblongata of the other, are reported. This is of interest for the pathogenesis and diagnosis of rabies. The laboratory methods utilized were: histochemistry (Faraco), inoculation of mice and fluorescent antibody test.