

RAIVA PARALÍTICA EM SUÍNO NO RIO GRANDE DO SUL

(Paralytic rabies in swine at Rio Grande do Sul)

Fabiano da Rosa VENANCIO* ; Taina dos Santos ALBERTI; Rosimeri ZAMBONI;
Haide Valeska SCHEID; Carolina Buss BRUNNER; Elisa Simone
Viégas SALLIS; Margarida Buss RAFFI

Laboratório Regional de Diagnóstico da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (LRD/FV/UFPel), Campus Universitário s/n, Capão do Leão/RS.
CEP: 96.010-900. *E-mail: fabianodarosavenancio@gmail.com

RESUMO

A raiva é uma doença infecciosa, potencialmente zoonótica, de distribuição mundial que afeta mamíferos domésticos, silvestres e humanos. Na América do Sul a raiva paralítica ocorre na forma de surtos cíclicos e é transmitida por morcegos hematófagos, principalmente o *Desmodus rotundus*. É uma doença responsável por prejuízos econômicos na pecuária, além de apresentar importância para a saúde pública. O presente trabalho tem como objetivo relatar um caso de raiva suína diagnosticado no Laboratório Regional de Diagnóstico, da Faculdade de Veterinária, da Universidade Federal de Pelotas. O caso ocorreu em uma propriedade localizada no município do Capão do Leão em um suíno, fêmea, sem raça definida, de dois anos de idade, criada em regime semiextensivo. Segundo o proprietário o animal apresentou apatia, anorexia, paralisia progressiva e decúbito lateral. Devido a evolução do quadro clínico foi realizada a eutanásia. Na necropsia não foram observadas lesões significativas. No exame histopatológico do encéfalo observou-se meningoencefalite não supurativa, manguito perivascular de linfócitos e raros eosinófilos, além de satelitose e gliose. Fragmentos do encéfalo e medula foram submetidos ao exame de Imunofluorescência Direta e prova biológica, confirmando o diagnóstico de raiva.

Palavras-chave: Imunofluorescência, imunohistoquímica, suínos, zoonose.

ABSTRACT

Rabies is a potentially zoonotic infectious disease with worldwide distribution that affects domestic, wild and human mammals. In South America, paralytic rabies occurs in the form of cyclic outbreaks and is transmitted by hematophagous bats, mainly *Desmodus rotundus*. It is a disease responsible for economic losses in livestock, besides of presenting importance to public health. This paper aims to report a case of swine rabies diagnosed at the Laboratório Regional de Diagnóstico, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas. The case occurred in a property located in the county of Capão do Leão in a female pig, two-year-old, undefined breed, raised in a semi-extensive regime. According to the owner, the animal presented apathy, anorexia, progressive paralysis and lateral decubitus. Due to the evolution of the clinical condition, euthanasia was performed. At necropsy no significant lesions were observed. Histopathological examination of the brain showed non-suppurative meningoencephalitis, perivascular cuff of lymphocytes and rare eosinophils, as well as satellitosis and gliosis. Brain and spinal cord fragments were submitted to Direct Immunofluorescence and biological tests, confirming the diagnosis of rabies.

Key words: Immunofluorescence, immunohistochemistry, swine, zoonosis.

INTRODUÇÃO

A raiva é uma doença infecciosa, potencialmente zoonótica, de distribuição mundial que afeta mamíferos domésticos, silvestres e humanos. É causada por um vírus RNA envelopado, pertencente a ordem *Mononegavirales*, família *Rhabdoviridae* gênero *Lyssavirus* (FERNANDES e RIET-CORREA, 2007). Em animais infectados o vírus rábico está presente em grandes quantidades na saliva, sendo a mordedura a principal forma de transmissão da doença. Na América do Sul a raiva paralítica ocorre na forma de surtos cíclicos e é transmitida por morcegos hematófagos, principalmente o *Desmodus rotundus* (MARCOLONGO-PEREIRA *et al.*, 2011).

No Brasil a raiva é a principal causa de encefalite em bovinos, causando prejuízos significativos para a pecuária nacional, os quais chegam a 17 milhões de dólares por ano e estão relacionados aos custos diretos e indiretos com a doença (FERNANDES e RIET-CORREA, 2007). Além de prejuízos na pecuária a raiva também apresenta grande importância na saúde pública (MARCOLONGO-PEREIRA *et al.*, 2011). Estima-se que 60.000 pessoas morrem por ano no mundo em decorrência desta doença. Em animais e humanos o período de incubação do vírus pode variar de dias a meses, e quando observados sinais clínicos a doença é sempre letal (OIE, 2014).

Em suínos a raiva ocorre nas formas paralítica e agressiva, e a transmissão pode ocorrer pela mordedura de morcegos hematófagos, de cães ou de gatos infectados (SOBESTIANSKY e BARCELLOS, 2007). Os achados de necropsia e histopatológicos são semelhantes aos observados em bovinos, sendo as lesões comumente restritas ao sistema nervoso central (PESSOA *et al.*, 2011). Alterações macroscópicas são raras e/ou ausentes e microscopicamente a lesão caracteriza-se por uma meningoencefalite não supurativa, com presença de manguitos perivasculares de células mononucleares e em muitos casos podem ser observados corpúsculos de inclusão intracitoplasmático (Corpúsculo de Negri) (PEDROSO *et al.*, 2009).

O diagnóstico de raiva pode ser realizado pelo exame histopatológico, com visualização do corpúsculo de Negri e pela imunohistoquímica (IHQ), a qual apresenta eficiência no diagnóstico e pode ser realizada em amostras fixadas em formalina. A Imunofluorescência Direta (IFD) e prova biológica são consideradas as técnicas padrão para o diagnóstico de raiva, no entanto o material deve ser acondicionado sob refrigeração (FERNANDES e RIET-CORREA, 2007; PEDROSO *et al.*, 2009).

No Brasil a raiva suína é pouco documentada, sendo descritos apenas três surtos nos últimos 15 anos, os quais ocorreram nos estados do Mato Grosso, Tocantins e Paraíba (SILVA *et al.*, 2008; NOCITI *et al.*, 2009; PESSOA *et al.*, 2011). Devido à baixa ocorrência de raiva em suínos o objetivo deste trabalho foi registrar um caso diagnosticado no Laboratório Regional de Diagnóstico (LRD), da Faculdade de Veterinária (FV), da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), alertando para a ocorrência desta patologia em outras espécies domésticas.

ATENDIMENTO AO PACIENTE

Em outubro de 2017, em uma propriedade localizada no município do Capão do Leão, Rio Grande do Sul um suíno, fêmea, sem raça definida, dois anos de idade, criado em

regime semiextensivo (campo nativo e suplementação de milho) juntamente com bovinos, apresentou apatia e anorexia. O quadro clínico evoluiu para paralisia progressiva dos membros pélvicos, decúbito lateral e movimentos de pedalagem. Devido à evolução e histórico de raiva em bovinos na propriedade, o proprietário optou pela eutanásia (intratecal com lidocaína 2%) e necropsia do animal.

Durante a necropsia, foram coletados e fixados em formalina tamponada 10% fragmentos dos órgãos das cavidades abdominal e torácica, bem como, encéfalo e medula espinhal. Fragmentos de cérebro, cerebelo e medula foram acondicionados sob refrigeração e encaminhados à Secretaria da Agricultura Estadual, para realização de imunofluorescência direta (IFD) e prova biológica no Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor.

Após 48 horas, as amostras fixadas em formalina foram clivadas, incluídas em parafina, cortadas em secções de 3 μ de espessura e coradas pela técnica de Hematoxilina e Eosina (HE). Cortes histológicos selecionados do encéfalo e medula espinhal, foram colhidos em lâminas positivadas para realização de IHQ. O anticorpo utilizado foi o monoclonal anti-rabies virus (clone 1C5, Bio-technie/Novusbiologicals), na diluição de 1:500. Como cromógeno foi utilizado o 3'3 diaminabenzidina. As lâminas foram contracoradas com Hematoxilina de Harris. Como controle positivo, foi utilizado corte de encéfalo bovino com diagnóstico de raiva confirmado e, como controle negativo utilizou-se uma seção do tecido analisado apenas com o diluente do anticorpo (PBST).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na necropsia não foram observadas lesões significativas. No exame microscópico do encéfalo observou-se meningoencefalite não supurativa, manguito perivascular de linfócitos com raros eosinófilos, além de satelitose e gliose difusa (Fig. 01A e 01B). Na IHQ as amostras de tecido nervoso analisadas não apresentaram imunomarcagem positiva para raiva. Já na IFD e prova biológica as amostras foram positivas, confirmando o diagnóstico.

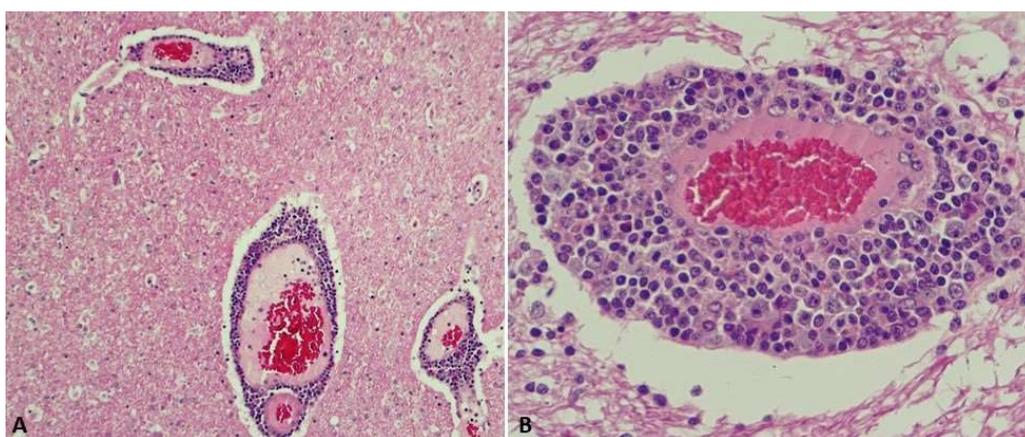


Figura 01: Encefalite não supurativa em suíno.

Obs.: Sistema nervoso central com manguitos perivasculars de células mononucleares (HE; A=10x; B=40x).

Em suínos a raiva pode ocorrer nas formas paralítica e agressiva. Na paralítica os animais apresentam inapetência, apatia, depressão, incoordenação, paralisia progressiva,

convulsão e morte. Na agressiva ocorre irritabilidade, agressividade, salivação, dificuldade de locomoção, decúbito, opistótono, convulsão e morte (SOBESTIANSKY e BARCELLOS, 2007). No presente caso os sinais clínicos apresentados pelo animal foram consistentes com a forma paralítica. Em suínos a raiva ocorre com maior frequência em locais onde há criação conjunta com bovinos, sendo a mordedura pelo morcego *D. rotundus* a principal via de transmissão do vírus e a forma paralítica a mais comumente observada. A doença também pode ser transmitida aos suínos pela mordedura de cães e gatos infectados (NOCITI *et al.*, 2009). Neste relato acredita-se que a transmissão ocorreu por meio da mordedura de morcegos hematófagos, visto que não havia cães e gatos com sintomatologia nervosa, além de haver histórico de raiva paralítica em bovinos e presença de morcegos em farnas próximo à propriedade.

Nos casos de raiva as lesões macroscópicas são raras ou ausentes. No exame microscópico, as lesões limitam-se ao sistema nervoso central, sendo caracterizadas por meningoencefalite não supurativa, com presença de manguito perivascular de células mononucleares, ganglioneurite e gliose difusa (SOBESTIANSKY e BARCELLOS, 2007; PESSOA *et al.*, 2011), assim como observado no presente caso. O corpúsculo de Negri, lesão patognomônica da doença que permite a confirmação do diagnóstico pela histopatologia, não foi observado nas seções histológicas analisadas, assim como em outras descrições da doença em suínos (PESSOA *et al.*, 2011). A ausência de corpúsculo de inclusão impossibilita a confirmação do diagnóstico de raiva pela análise histopatológica, devendo assim ser realizado o diferencial de outras encefalites em suínos (PESSOA *et al.*, 2011) como a infecção por Herpesvirus suíno tipo I (pseudo raiva ou doença de Aujeszky), intoxicação por cloreto de sódio, polioencefalomielite, doença do edema e encefalites bacterianas (SOBESTIANSKY e BARCELLOS, 2007).

Na IHQ não houve imunomarcagem positiva para raiva nos fragmentos de encéfalo analisados. Entretanto, na IFD e prova biológica as amostras foram positivas confirmando o diagnóstico de raiva. Segundo Achkar *et al.* (2010) a IHQ e IFD apresentam concordância nos resultados de diagnósticos da raiva, porém a IHQ apresenta maior sensibilidade quando a porção de encéfalo utilizado na técnica é cerebelo ou tronco encefálico. Estudo realizado por Pedroso *et al.* (2008) demonstrou que o anticorpo utilizado na IHQ também pode influenciar no resultado, sendo observado uma imunomarcagem mais intensa com anticorpos policlonais. A utilização de anticorpos policlonais permite que um maior número de epítomos sejam reconhecidos, visto que para a produção dos antígenos são utilizados um maior número de animais (PEDROSO *et al.*, 2008). Acredita-se que o resultado negativo obtido na IHQ, do caso relatado, pode ser atribuído ao anticorpo monoclonal utilizado na técnica.

Apesar da IFD ser considerada a técnica padrão para o diagnóstico de raiva, devido a sua rapidez e eficiência no resultado, é necessário que as amostras sejam acondicionadas sob refrigeração para realização da técnica (FERNANDES e RIET-CORREA, 2007; PEDROSO *et al.*, 2009; OIE, 2014). Sendo assim o exame histopatológico e IHQ tornam-se ferramentas importantes no diagnóstico da doença, principalmente em casos nos quais o encéfalo está fixado em formalina. Além disso, na IHQ o vírus pode ser detectado em tecidos fixados em formalina por longos períodos, inclusive em casos nos quais o sistema nervoso está em processo de autólise (ARSLAN *et al.*, 2004; PEDROSO *et al.*, 2008).

Nos últimos 10 anos no LRD/UFPEL foram diagnosticados 591 casos de raiva em bovinos, os quais ocorreram em 160 propriedades de 24 municípios da área de influência do laboratório (SCHILD, 2019). Porém nos 40 anos de atuação do LRD/UFPEL este foi o primeiro caso de raiva diagnosticado na espécie suína na instituição. Ressalta-se a importância da realização de necropsia por pessoal capacitado e diagnóstico histopatológico, bem como a utilização da IHQ e IFD, para estabelecer o diagnóstico definitivo de raiva nas diferentes espécies, possibilitando controle e prevenção da doença.

CONCLUSÕES

Ressalta-se a importância da realização de necropsia e diagnóstico histopatológico, bem como a utilização da IHQ e IFD, para estabelecer o diagnóstico definitivo de raiva nas diferentes espécies, possibilitando controle e prevenção da doença.

REFERÊNCIAS

- ACHKAR, S.M.; FERNANDES, E.R.; CARRIERI, M.L.; CASTRO, A.B.M.; BATISTA, A.M.; DUARTE, M.I.S.; KOTAIT, I. Sensibilidade da técnica de imuno-histoquímica em fragmentos de sistema nervoso central de bovinos e equinos naturalmente infectados pelo vírus da raiva. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.3, n.30, p.211-218, 2010.
- ARSLAN, A.; SAGLAM, Y.S.; TEMUR, A. Detection of rabies viral antigens in non-autolysed and autolysed tissues by using an immunoperoxidase technique. *Veterinary Record*, v.155, p.550-552. 2004.
- FERNANDES, G.C.; RIET-CORREA, F. Raiva. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R.J. *Doenças de Ruminantes e Equídeos*. 3ª ed., Santa Maria: Pallotti, p.184-198, 2007.
- MARCOLONGO-PEREIRA, C.; SALLIS, E.S. V.; GRECCO, F.B.; RAFFI, M.B.; SOARES, M.P.; SCHILD, A.L. Raiva em bovinos na Região Sul do Rio Grande do Sul: epidemiologia e diagnóstico imuno-histoquímico. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.3, n.1, p.331-335, 2011.
- NOCITI, D.L.P.; CARAMORI JÚNIOR, J.G.; MATTA, G.C.A. Raiva em suíno no estado de Mato Grosso - Relato de infecção Conjunta com bovino da mesma propriedade. *Arquivo do Instituto Biológico*, v.76, n.2, p.269-271, 2009.
- OIE - World Organisation for Animal Health. La rabia, un flagelo que mata cada año a más de 60.000 personas. 2014. Disponível em <http://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/portal-sobre-la-rabia/que-es-la-rabia/>. Acesso em 12 de novembro de 2018.
- PEDROSO, P.M.O.; PESCADOR, C.A.; BANDARRA, P.M.; RAYMUNDO, D.L.; BORBA, M.R.; WOUTERS, F.; JÚNIOR, P.S.B.; DRIEMEIER, D. 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* v.12, n.28, p.627-632, 2008.

PEDROSO, P.M.O.; COLODEL, E.M.; PESCADOR, C.A.; P.M.; ARRUDA, L.P.; DRIEMEIER, D. Aspectos clínicos e patológicos em bovinos afetados por raiva com especial referência ao mapeamento do antígeno rábico por imuno-histoquímica. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.29, n.11, p.899-904, 2009.

PESSOA, C.R.M.; SILVA, M.L.C.R.; GOMES, A.A.B.; GARCIA, A.I.E.; ITO, F.H.; BRANDÃO, P.E.; RIET-CORREA, F. Paralytic Rabies in Swine. Brazilian Journal of Microbiology., v.42, p.298-302, 2011.

SILVA, R.O.S.; LOBATO, F.C.F.; COSTA FILHO, R.B. et al. Surto de raiva em suínos em Miracema, Tocantins, Brasil. Ciência Veterinária nos Trópicos, v.11, n.2/3, p.73-75, 2008.

SCHILD, A.L.; MARQUES, L. S. Boletim do Laboratório Regional de Diagnóstico. 41ª ed., Pelotas, RS, Santa Cruz, p.1-63, 2019.

SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. Doenças dos Suínos. 1ª ed., Goiânia: Cãnone Editorial, p.313-314, 2007.