



Acta Scientiae Veterinariae

ISSN: 1678-0345

ActaSciVet@ufrgs.br

Universidade Federal do Rio Grande do  
Sul  
Brasil

Souza Oliveira, Juceli; Feitosa Albuquerque, Raquel; Rocha Aguiar-Filho, Cristiano;  
Peixoto de Arruda, Laura; Moleta Colodel, Edson; Pessoa Rocha, Brena; Evêncio-Neto,  
Joaquim; Souza Mendonça, Fábio

Meningoencefalite necrosante em bovinos associada ao herpesvírus bovino-5 em  
Pernambuco - Brasil

Acta Scientiae Veterinariae, vol. 42, 2014, pp. 1-5

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Porto Alegre, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=289039188006>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal

Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

## Meningoencefalite necrosante em bovinos associada ao herpesvírus bovino-5 em Pernambuco - Brasil

Necrotizing Meningoencephalitis in cattle Associated to Bovine Herpesvirus-5 in Pernambuco - Brazil

Juceli Souza Oliveira<sup>1</sup>, Raquel Feitosa Albuquerque<sup>2</sup>, Cristiano Rocha Aguiar-Filho<sup>3</sup>, Laura Peixoto de Arruda<sup>4</sup>, Edson Moleta Colodel<sup>4</sup>, Brena Pessoa Rocha<sup>5</sup>, Joaquim Evêncio-Neto<sup>5</sup> & Fábio Souza Mendonça<sup>5</sup>

### ABSTRACT

**Background:** Bovine Herpesvirus-5 (BoHV-5) is the most important cause of encephalopathy in cattle in Brazil. Necrotizing meningoencephalitis is an acute or subacute infectious disease that has low morbidity, higher fatal outcome and affects animals of all age groups, but especially young cattle under stress situations. The disease may occur like outbreaks or affect cattle alone. The mortality and morbidity varies from 75-100% and 0.05 to 22% respectively. This study aims to report the occurrence of two outbreaks of meningoencephalitis caused by bovine herpesvirus-5 diagnosed in the state of Pernambuco in the years 2011-2012.

**Cases:** The epidemiological data and clinical signs were obtained with the veterinarians of two properties where the outbreaks occurred. Necropsies in two cattle were performed and samples of brain, spinal cord and tissue's fragments from thoracic and abdominal cavities were collected. The material fixed in 10% buffered formalin was processed routinely for histopathological examination. After fixation of the brain, fragments of cerebral cortex, basal ganglia, thalamus, midbrain, cerebellar peduncles, cerebellum, bridge, medulla oblongata and cervical spinal cord were immunohistochemically processed for rabies. CNS samples were subjected to the technique of PCR for detection of BoHV-5. In affected cattle, the main clinical signs consisted of circling, blindness, nasal and ocular discharge, head pressing, muscle tremors, incoordination, and permanent lateral recumbence followed by death. At necropsy, no significant changes observed. After cutting the brain previously fixed in formaldehyde solution, softened grayish areas of granular appearance and cavitations in the cerebral cortex, midbrain, hippocampus, thalamus, basal ganglia and cerebellum were observed. Microscopically there was nonsuppurative meningitis and diffuse encephalitis with perivascular cuffs, mononuclear or undifferentiated cells and neuronal necrosis. In areas of polioencefalomalacia there was neuronophagia and the presence of Gitter cells. In the samples submitted to PCR had amplification of DNA from BoHV-5.

**Discussion:** The diagnosis of necrotizing meningoencephalitis by BoHV-5 was based on the epidemiology, clinical signs, characteristic histological lesions and especially in molecular detection of viral DNA, similar to those described in other cases of disease. In Pernambuco the disease had not yet been described. In the State of Paraíba, three cases with characteristic lesions of meningoencephalitis by BoHV-5 were diagnosed. However, in these cases the diagnosis was only based on clinical signs and lesions in the CNS of affected cattle. Despite the apparent low prevalence in northeastern Brazil, the disease has seems to be more frequent and many other outbreaks are not probably diagnosed, especially outside of areas covered by veterinary diagnostic laboratories. In CNS samples of this study no intranuclear eosinophilic inclusion bodies in astrocytes were observed. In those cases, the IHC for rabies becomes an important methodology in differential diagnosis of disease, especially in tissues embedded in paraffin and fixed in formalin with non-suppurative meningoencephalitis in which inclusion bodies are observed. The results of this study confirmed BoHV-5 infection in cattle in Pernambuco in which the technique of PCR using primers that encode protein C (gC) was used.

**Keywords:** bovine, diseases of central nervous system, bovine herpesvirus, malacia, PCR.

**Descritores:** bovinos, doenças do sistema nervoso central, herpesvírus, malacia, PCR.

Received: 12 March 2014

Accepted: 18 July 2014

Published: 28 July 2014

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Ciência Animal Tropical & Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA), Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, PE, Brazil. <sup>2</sup>Programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária & Departamento de Medicina Veterinária, UFRPE, Recife, PE. <sup>3</sup>Secretaria do Desenvolvimento da Agropecuária e da Pesca da Paraíba (SEDAP), Guarabira, PB, Brazil. <sup>4</sup>Departamento de Clínica Médica Veterinária, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT, Brazil. <sup>5</sup>Laboratório de Diagnóstico Animal, DMFA-UFRPE, Recife, PE, Brazil. CORRESPONDENCE: F.S. Mendonça [fabio.mendonca@pq.cnpq.br - Tel: +55 (81) 3320-6387]. Laboratório de Diagnóstico Animal, DMFA-UFRPE. CEP 52171-900 Recife, PE, Brazil.

## INTRODUÇÃO

Herpesvírus Bovino-5 (BoHV-5) é um alfa herpesvírus, pertencente à família Herpesviridae, subfamília Alphaherpesvirine e gênero *Varicellovirus* [18]. Esse vírus provoca meningoencefalite em bovinos [11], sendo uma das principais causas de encefalopatia nos rebanhos brasileiros [12]. A meningoencefalite necrosante caracteriza-se como uma doença infecto-contagiosa aguda ou subaguda, de baixa morbidade [12], altamente fatal e atinge animais de todas as faixas de idade, mas principalmente bovinos jovens submetidos a situações de estresse [10,17,21]. A doença pode ocorrer na forma de surtos ou afetar bovinos isoladamente [1,3-5,16,19] sendo que a mortalidade varia de 75-100 % e a morbidade pode apresentar valores de 0,05-22% [3,16].

No Brasil, a doença é endêmica em vários Estados da região Sudeste, Centro-Oeste e Sul [1,3-5,9,16,19,20] e na região norte do país a doença foi descrita no Estado do Pará [15]. No nordeste do Brasil, casos esporádicos de meningoencefalite necrosante foram descritos no Estado da Paraíba, porém nesses casos o DNA viral não foi isolado [8].

O presente trabalho tem por objetivo relatar a ocorrência de dois surtos de meningoencefalite por herpesvírus bovino-5 diagnosticados no Estado de Pernambuco nos anos de 2011-2012.

## CASOS

Os dados referentes à epidemiologia e aos sinais clínicos foram obtidos com os médicos veterinários das propriedades onde ocorreram os dois surtos da doença. No primeiro surto, um bovino foi necropsiado pela equipe do Laboratório de Diagnóstico Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (LDA-UFRPE). Coletaram-se encéfalo, medula espinhal e fragmentos dos órgãos das cavidades torácica e abdominal. O material coletado foi fixado em formol a 10% tamponado e processado rotineiramente para exame histopatológico. Um segundo bovino foi necropsiado pelo médico veterinário da propriedade que remeteu ao LDA-UFRPE, encéfalo, medula espinhal e órgãos da cavidade torácica e abdominal conservados em formol a 10%.

Após a fixação do encéfalo dos bovinos, foram realizados cortes transversais seriados de fragmentos de córtex cerebral, núcleos da base, tálamo, mesencéfalo, pedúnculos cerebelares, cerebelo, ponte, medula

oblonga e medula cervical. Amostras dos encéfalos fixadas em formol e emblocadas em parafina foram submetidas à técnica de imuno-histoquímica (IHQ) para raiva [14]. Para isto, utilizou-se recuperação antigênica com calor e solução de tampão citrato 10 mM (pH 6,0) e anticorpo primário policlonal<sup>2</sup> na diluição de 1:1000 em PBS (phosphate buffered saline), durante 60 min em estufa a 37°C. Para revelação, empregou-se cromógeno vermelho<sup>1</sup> por 5 min. Posteriormente, as lâminas foram contra-coradas com hematoxilina de Harris por 1 min e avaliadas em microscópio óptico quanto à presença de marcações.

Amostras do SNC foram também submetidas à PCR para detecção de BoHV-5 [2]. A extração de DNA foi obtida utilizando fenol-clorofórmio modificado. Os *primers* utilizados que codificam a glicoproteína C (gC) foram B1, específico para BoHV-1 (5-CAA CCG AGA CGG AAA GCT CC-3 nt. 185-204), B5, para BoHV-5 (5-CGG ACG AGA CGC CCT TGG-3nt. 322-339) e Bcon, *primer* consenso [5-AGT GCA CGT ACA GCG GCT CG 3nt. 519-538 (BoHV-1) e nt. 461-480 (BoHV-5)], amplificando um produto de 354 pb para BoHV-1 e 159 pb para BoHV-5. A leitura foi feita por eletroforese em gel de agarose a 2% corado com brometo de etídio e analisado em transluminador (UV-300 nm).

Os surtos foram observados nos Municípios de São Lourenço da Mata e Moreno, Região Metropolitana do Recife, Pernambuco. O primeiro surto ocorreu numa propriedade pequena, com menos de 10 hectares onde eram criados semi-extensivamente 18 bovinos. Foram afetados três bovinos, dois da raça nelore e outro mestiço de holandês, com idades de sete meses a dois anos. A evolução do quadro clínico nos bovinos afetados foi de cinco a sete dias. O segundo surto ocorreu em agosto de 2012, numa propriedade de 21 hectares e resultou na morte de dois bezerros da raça nelore com quatro meses de idade. A evolução do quadro clínico nos bezerros afetados foi de quatro dias.

Os sinais clínicos observados foram similares nos bovinos das duas propriedades e consistiram em isolamento do rebanho, andar em círculos, apatia, anorexia, tremores de cabeça e pescoço, corrimento nasal, cegueira, pressão da cabeça contra objetos, incoordenação, depressão acentuada, catatonia, decúbito esternal e em seguida decúbito lateral permanente seguido de morte (Figura 1). Na necropsia, não foram observadas alterações significativas. Ao corte do encéfalo, após a fixação, foram observadas áreas de aspecto granular,



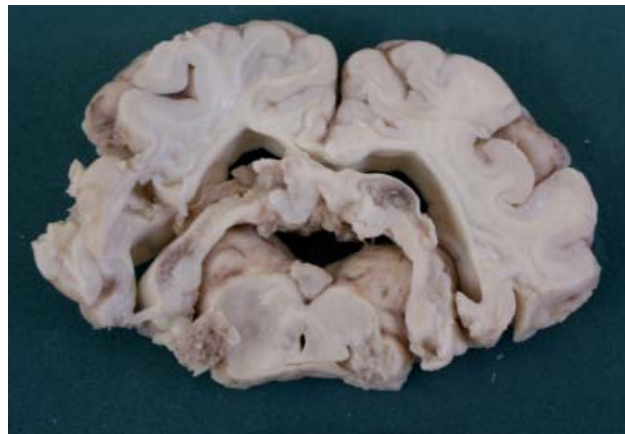
com coloração acinzentada, amolecidas e cavitações no córtex telencefálico, mesencéfalo, colículo rostral, pedúnculos cerebrais (substantia nigra e crus cerebri), hipocampo, tálamo e núcleo geniculado medial (Figura 2).

Microscopicamente, havia meningoencefalite necrosante não supurativa difusa. Nos dois bovinos examinados notou-se necrose cortical cerebral laminar, com acúmulo de células mononucleares indiferenciadas, plasmócitos e células Gitter, principalmente nos

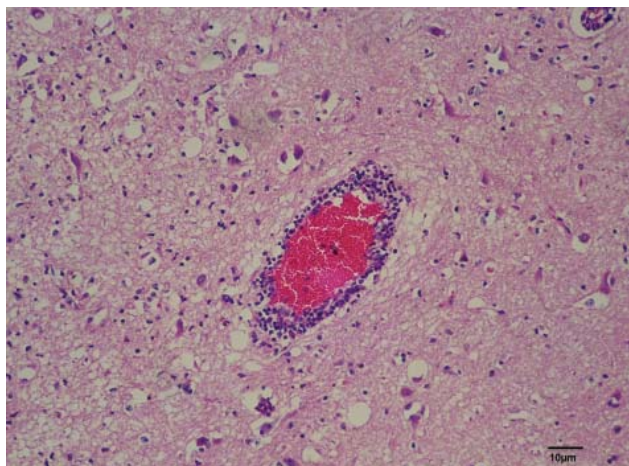
espaços perivascular e submeningeano (Figura 3). Manguitos perivascular linfoplasmocitários, acúmulo discreto de neutrófilos, necrose neuronal, neuronofagia e células Gitter (Figura 4) foram observadas em outras áreas de malacia nos núcleos da base, tálamo, mesencéfalo e pedúnculos cerebelares. No cerebelo, ponte, medula oblonga e medula cervical não foram observadas lesões. Na IHQ não houve marcação do antígeno rábico. Nas amostras submetidas à PCR houve amplificação do DNA de BoHV-5.



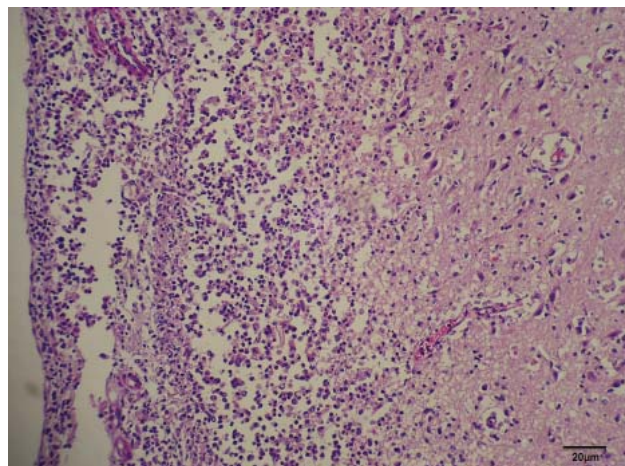
**Figura 1.** Bezerro de 7 meses de idade com meningoencefalite necrosante associada ao herpesvírus bovino-5 demonstrando opistótono.



**Figura 2.** Áreas de aspecto granular, com coloração acinzentada, amolecidas e presença de cavitações no encéfalo de bovino fixado em formol a 10%.



**Figura 3.** Tálamo apresentando manguito perivascular, aumento do status spongiosus e neurônios vermelhos (H&E 40x). [Barra: 10 µm].



**Figura 4.** Meningite linfocitária e malacia severa do córtex telencefálico com infiltrado de células mononucleares (H&E 20x). [Barra: 20 µm].

## DISCUSSÃO

O diagnóstico de meningoencefalite necrosante por BoHV-5 foi baseado na epidemiologia, sinais clínicos, lesões macroscópicas, achados histológicos característicos e principalmente na detecção molecular de DNA viral, similares aos descritos em outros casos da doença [2,5,7,13]. Os sinais clínicos e achados de

necropsia como os que são relatados neste trabalho são importantes para o diagnóstico presuntivo de meningoencefalite necrosante por BoHV-5. Porém, outras enfermidades que afetam o SNC de bovinos onde os sinais clínicos podem ser principalmente cerebrais, tais como polioencefalomalacia e raiva, devem ser levadas em consideração no diagnóstico diferencial.

Em Pernambuco, a doença ainda não havia sido descrita. No Estado da Paraíba, três casos com lesões características de meningoencefalite por BoHV-5 foram diagnosticados em bovinos com idade entre 18 e 24 meses de idade. Porém nesses casos o diagnóstico se baseou unicamente nos sinais clínicos e lesões histológicas do SNC dos bovinos afetados [8]. Apesar da aparente baixa prevalência da enfermidade na região Nordeste do Brasil, é provável que a mesma seja mais frequente e que muitos surtos não sejam diagnosticados, especialmente fora das áreas de abrangências dos laboratórios de diagnóstico veterinário.

Não é possível afirmar que todas as mortes nos rebanhos estudados foram decorrentes da infecção por BoHV-5. Porém, as observações do quadro clínico compatível, além de lesões macroscópicas e microscópicas semelhantes às descritas por outros autores [4,15,16,20] são evidências da importância dessa enfermidade como causa de alterações neurológicas para estes rebanhos. A doença pode aparecer em forma de surtos e afetar esporadicamente bezerros lactantes [10], como nos casos descritos neste trabalho e em alguns casos até 30% do rebanho pode ser afetado. Em casos esporádicos de meningoencefalite necrosante por BoHV-5, são afetados principalmente bovinos jovens de 6-7 meses, mas com menor frequência animais adultos maiores de 3 anos de idade também podem ser afetados [10].

Em um dos casos avaliados não ocorreu amplificação de DNA viral. Acredita-se que o tempo em que as amostras permaneceram em solução de formalina a 10%, possa ter limitado a amplificação, pois em amostras de encéfalos com meningoencefalite por BoHV-5 que permaneceram em média uma semana em formalina tamponada, a 10% a detecção de DNA viral foi possível em 75% dos casos analisados [6]. Um estudo onde as amostras permaneceram por mais de 10 dias em solução de formalina demonstrou que a amplificação do DNA viral ocorreu com menor

frequência; em apenas 7 (21,8%) das amostras [5]. Em outro estudo, a Identificação de DNA de BoHV-5 foi positiva em 40% das amostras que tinham diagnóstico de meningoencefalite necrosante com características de infecção por BoHV-5 e em 47,3% das amostras que tinham diagnóstico de meningoencefalite não-supurativa inespecífica. Outros fatores como quantidades insuficientes de DNA viral no tecido, falhas na extração do DNA e ausência do DNA, podem também influenciar negativamente o resultado do exame. Outro fator que deve ser levado em consideração é que mesmo em amostras em que havia presença de inclusões intranucleares em astrócitos, o DNA de BoHV-5 não foi identificado em 33,4% dos tecidos analisados [2].

Nas amostras de SNC deste estudo, não se observaram corpúsculos de inclusão eosinofílicos intranucleares em astrócitos. Deve-se lembrar de que nesses casos a IHQ para raiva torna-se uma metodologia importante no diagnóstico diferencial da doença; principalmente em tecidos emblocados em parafina e fixados em formol onde há meningoencefalite não-supurativa nos quais corpúsculos de inclusão não são observados [13].

Os resultados do presente trabalho confirmaram a infecção por BoHV-5 em bovinos no Estado de Pernambuco, em que a técnica de PCR utilizando-se primers que codificam a proteína C (gC) foram utilizadas. A utilização desta técnica molecular associada aos dados epidemiológicos, clínicos e patológicos se demonstrou como importante ferramenta para o diagnóstico desta doença.

#### SOURCES AND MANUFACTURERS

<sup>1</sup>Vector Laboratories®, NovaRED, Burlingame, CA, EUA.

<sup>2</sup>Light diagnostics™ rabies polyclonal DFA reagent, Chemicom International, Temecula, CA, EUA.

**Declaration of interest.** The authors wish to confirm that there are no known conflicts of interest associated with this publication and there has been no significant financial support for this work that could have influenced the results.

#### REFERENCES

- 1 Aquino-Neto H.M., Carvalho A.U., Facury Filho E.J., Ferreira P.M., Barbosa-Stancioli E.F., Lobato Z.I.P., Alvarenga M.R., Serrano A.L., Martins R.A. & Afonso D.A.F. 2009. Meningoencefalite por Herpesvirus bovino 5 em Minas Gerais: relato de caso clínico. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 61(1): 1-5.
- 2 Arruda L.P., Nakazato L., Dutra V., Lemos R.A.A., Nogueira A.P.A., Cruz R.A.S., Pescador C.A. & Colodel E.M. 2010. Detecção molecular de herpesvírus bovino 1 e 5 em amostras de encéfalo conservadas em formol e emblocadas em parafina provenientes de bovinos com doença neurológica. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 30(8): 646-650.
- 3 Colodel E.M., Nakazato L., Weiblen R., Mello R.M., Silva R.R.P., Souza M.A., Oliveira J.A.F. & Caron L. 2002. Meningoencefalite necrosante causada por herpesvírus bovino no Estado de Mato Grosso, Brasil. *Ciência Rural*. 32(2): 293-298.

- 4 De Paula R.R., Souza M.A., Colodel E.M., Hübner S.O., Brum K.B., Jorge K.B.C. & Damasceno A.D. 2005. Meningoencefalite causada pelo BHV-5 em um bovino no Estado de Goiás. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 57(Supl 1): 2.
- 5 Elias F., Schild A.L. & Riet-Correa F. 2004. Meningoencefalite e encefalomalacia por Herpes vírus bovino-5 (BHV-5): distribuição das lesões no sistema nervoso central de bovinos naturalmente infectados. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 24(3): 123-131.
- 6 Ely R.W., D'offay J.M., Ruefer A.H. & Cash C. 1996. Bovine herpesviral encephalitis: a retrospective study on archived formalin-fixed, paraffin-embedded brain tissue. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 8(4): 487-492.
- 7 Ferrari H.F., Luvizotto M.C.R., Rahal P. & Cardoso T.C. 2007. 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 Virology Methods*. 146(1): 335-340.
- 8 Galiza G.J.N., Silva M.L.C.R., Dantas A.F.M., Simões S.V.D. & Riet-Correa F. 2010. Doenças do sistema nervoso de bovinos no semiárido nordestino. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 30(3): 267-276.
- 9 Gomes L.I., Rocha M.A., Costa E.A., Lobato Z.I.P., Mendes L.C.N., Borges A.S., Leite R.C. & Barbosa-Stancioli E.F. 2002. Detecção de herpesvírus bovino 5 (BoHV-5) em bovinos do Sudeste Brasileiro. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 54(2): 217-220.
- 10 Halfen D.C. & Riet-Correa F. 2007. Infecções por Herpesvírus Bovino-1 e Herpesvírus Bovino-5. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (Eds). *Doenças de ruminantes e eqüídeos*. v.2. 3.ed. Santa Maria: Pallotti, pp.126-137.
- 11 Johnston L.A.Y., Simmons G.C. & McGavin M.D. 1962. A viral meningoencephalitis in calves. *Australian Veterinary Journal*. 38(4): 207-215.
- 12 Lisbôa J.A.N., Isernhagen A.J., Borges A.S., Amorim R.M.A., Balarin M.R.S., Lunardi M. & Alfieri A.A. 2009. Hematological and cerebrospinal fluid changes in cattle naturally and experimentally infected with the bovine herpesvirus 5. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 52(1): 69-76.
- 13 Pedroso P.M.O., Colodel E.M., Pescador C.A., Arruda L.P. & Driemeier D. 2009. Aspectos clínicos e patológicos em bovinos afetados por raiva com especial referência ao mapeamento do antígeno rábico por imuno-histoquímica. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 29(11): 899-904.
- 14 Pedroso P.M.O., Pescador C.A., Bandarra P.M., Raymundo D.L., Borba M.R., Wouters F., Bezerra Júnior P.S. & Driemeier D. 2008. Padronização da técnica de imuno-histoquímica para raiva em amostras de sistema nervoso central de bovinos fixados em formol e emblocados em parafina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 28(12): 627-632.
- 15 Riet-Correa G., Duarte M.D., Barbosa J.D., Oliveira C.M.C., Cerqueira V.D., Brito M.F. & Riet-Correa F. 2006. Meningoencefalite e polioencefalomalacia causadas por Herpesvírus bovino-5 no estado do Pará. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 26(1): 44-46.
- 16 Rissi D.R., Oliveira F.N., Rech R.R., Pierezan F., Lemos R.A.A. & Barros C.S.L. 2006. Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 26(2): 123-132.
- 17 Rissi D.R., Rech R.R., Flores E.F., Kommers G.D. & Barros C.S.L. 2007. Meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 27(7): 251-260.
- 18 Roizman B., Desrosiers R.C., Fleckenstein B., Lopez C., Minson A.C. & Studdert M.J. 1992. The family herpesviridae: An update. *Archives of Virology*. 28(1): 1-7.
- 19 Salvador C.S., Lemos R.A.A., Riet-Correa F., Roehle P.M. & Osório A.L.A.R. 1998. Meningoencefalite em bovinos causada por herpesvírus bovino-5 no Mato Grosso do Sul e São Paulo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 18(2): 76-83.
- 20 Schild A.L., Riet-Correa F., Pereira D.B., Ladeira R., Raffi M.B., Andrade G.B. & Schuch L.F. 1994. Doenças diagnosticadas pelo Laboratório Regional de Diagnóstico no ano de 1993 e comentários sobre algumas doenças. *Boletim do Laboratório Regional de Diagnóstico*. n.14. Pelotas: UFPel, 97p.
- 21 Studdert M.J. 1990. Bovine encephalitis herpesvirus. *Veterinary Record*. 126(1): 21-22.

