

## MENINGOENCEFALITE E NECROSE DO CÓRTEX CEREBRAL EM BOVINOS CAUSADAS POR HERPES VÍRUS BOVINO-1<sup>1</sup>

FRANKLIN RIET-CORREA<sup>2,3</sup>, TELMO VIDOR<sup>2,3</sup>, ANA LUCIA SCHILD<sup>2,3</sup> e MARIA DEL CARMEN MÉNDEZ<sup>2,3</sup>

**ABSTRACT.** - Riet-Correa F., Vidor T., Schild A.L. & Méndez M.C. 1989. [**Meningoencephalitis and necrosis of the cerebral cortex in cattle caused by Herpes Virus Bovine-1.**] Meningoencefalite e necrose do córtex cerebral em bovinos causadas por Herpes Vírus Bovino-1. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 9(1/2):13-16. Laboratório Regional de Diagnóstico, Fac. Vet., UFPel, Campus Universitário, Pelotas, RS 96100, Brazil.

The nervous form of the Herpes Virus Bovine-1 infection is described in calves from 2 farms in the State of Rio Grande do Sul, southern Brazil. Clinical signs were characterized by anorexia, depression, mild nasal and ocular discharge and occasionally excitation episodes with muscular tremors, nystagmus and circling. At necropsies, pericarditis, enlarged livers, pneumonia and erosions of the rumen and abomasum were observed in some animals. Histological lesions of the nervous system were characterized by non purulent meningoencephalitis and necrosis of the cerebral cortex. Inclusion bodies in the astrocytes were observed in only one calf. The diagnosis was confirmed by direct immunofluorescence and identification of the virus in cell cultures.

**INDEX TERMS:** Herpes Virus Bovine-1, meningoencephalitis, necrosis of the cerebral cortex, calves.

**SINOPSE.** - Descreve-se a ocorrência, em 2 estabelecimentos no Rio Grande do Sul, da forma nervosa da infecção por HVB-1 em terneiros lactentes. Os sinais clínicos se caracterizaram por anorexia, discreto corrimento ocular e nasal e depressão profunda com períodos de excitação, nos quais se observavam tremores musculares, nistagmo, marcha em círculos e opistótono. Em alguns dos animais necropsiados, foram observados pericardite, hepatomegalia, pneumonia e erosões do rúmen e abomaso. As lesões histológicas do sistema nervoso central foram caracterizadas por meningoencefalite não purulenta e necrose do córtex cerebral. Em um caso foram observados corpúsculos de inclusão intranucleares nos astrócitos. O vírus foi identificado através da imunofluorescência direta e isolamento em cultivos primários de pulmão de feto bovino.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Herpes Vírus Bovino-1, meningoencefalite, necrose do córtex cerebral, bezerras.

### INTRODUÇÃO

As infecções por Herpes Vírus Bovino-1 (HVB-1) causam, em bovinos, doenças clinicamente diferentes, evidenciadas por vulvovaginite, balanopostite, rinotraqueíte, abortos, ceratoconjuntivite, enterite e septicemia (Gibbs & Rewyemamu 1977).

No Brasil o HVB-1 foi isolado de um rim de feto bovino (Mueller et al. 1978) e de bovinos com vulvovaginite (Alice 1978, Mueller et al. 1979, Nogueira et al. 1986) e abortos (Nogueira et al. 1986).

A forma nervosa da enfermidade tem sido descrita em diversos países incluindo Austrália (Johnston et al. 1962, Gardiner & Nairn 1964, Hill et al. 1984), Estados Unidos (Barenfus 1963, Eugster et al. 1974), Canadá (Beck 1975, Gough & James 1975), Escócia (Watt et al. 1981), Hungria (Bartha et al. 1969), Síria (Bagdadi & Martin 1974), Argentina (Carrillo et al. 1983a, b) e Uruguai (Dias et al. 1982).

O objetivo deste trabalho é descrever a ocorrência de meningoencefalite e necrose do córtex cerebral causadas pelo HVB-1, em bezerras do Rio Grande do Sul.

### MATERIAL E MÉTODOS

O dados epidemiológicos e clínicos foram observados nos locais dos surtos. No estabelecimento 1 foram necropsiados 3 animais; 1 morto espontaneamente e 2 sacrificados quando estavam em estado agônico. No estabelecimento 2 foi sacrificado e necropsiado o único animal afetado.

Para o estudo histológico, órgãos das cavidades abdominal e torácica e sistema nervoso central foram fixados em formol a 10%, processados em parafina, cortados em seções de 6 micra e corados pela técnica hematoxilina-eosina. No sistema nervoso central foram realizados cortes representativos das seguintes áreas: córtex cerebral, cápsula interna, tálamo, tubérculo quadrigêmeo anterior, cerebelo, ponte, medula oblonga e medula cervical, dorsal e lombar.

No estabelecimento 1 foram coletados materiais do cérebro dos dois animais sacrificados, identificando-se o vírus através da técnica de imunofluorescência direta. O material foi inoculado em cultivos primários de pulmão de feto bovino realizando-se o teste de soroneutralização com soro hiperimune preparado com a amostra Los Angeles de HVB-1.

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 29 de março de 1988.

<sup>2</sup> Laboratório Regional de Diagnóstico, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Campus Universitário, Rio Grande do Sul, 96100 Pelotas, Rio Grande do Sul.

<sup>3</sup> Bolsista do CNPq.

## RESULTADOS

### *Estabelecimento 1*

**Epidemiologia e sinais clínicos.** O surto ocorreu no mês de novembro de 1978 em um rebanho de gado Holandês no município de Rio Grande, localidade de Santa Isabel, em um grupo de 40 bezerros de aproximadamente 1 mês de idade, que permaneciam com as mães durante o dia após a ordenha, e eram separados à noite. Foram afetados 12 bezerros, dos quais morreram 9 e sobreviveram 3.

Os sinais clínicos caracterizaram-se por anorexia, corrimento ocular e nasal, depressão profunda, com períodos de excitação, durante os quais se observavam tremores, nistagmo, marcha para trás ou em círculos e opistótono; em algumas oportunidades os animais caíam em decúbito lateral apresentando movimentos de pedalagem. Finalmente permaneciam em decúbito e morriam após um curso clínico de 4 a 7 dias. Dos três animais que sobreviveram, 2 permaneceram com dificuldade para beber leite por algum tempo, pelo que tiveram que ser alimentados artificialmente.

**Patologia.** Dos 3 animais necropsiados, 2 (n<sup>os</sup> 1 e 2) apresentaram pneumonia nas porções inferiores do pulmão e exsudato purulento nos brônquios; um (n<sup>o</sup> 1) apresentou exsudato fibrino-purulento no pericárdio e 2 (n<sup>os</sup> 2 e 3) apresentaram no rúmen e abomaso áreas de depressão cobertas por exsudato.

Na histologia as lesões mais importantes localizaram-se no sistema nervoso central, sendo similares nos 3 animais e caracterizando-se por meningoencefalite e necrose do córtex cerebral. A encefalite evidenciava-se por acúmulo perivascular de linfócitos, macrófagos e plasmócitos e, em algumas ocasiões, neutrófilos. Também se observava gliose marcada. Nas áreas afetadas os neurônios apareciam com cromatólise central ou contraídos, com o citoplasma eosinofílico e o núcleo hiper cromático. As le-



Fig. 1. Acúmulos perivascularres linfocitários nos tubérculos quadrigêmeos de um bezerro do estabelecimento 1. HE, obj. 4.

sões inflamatórias eram observadas tanto na substância branca como na cinzenta, sendo mais marcadas no córtex cerebral onde os acúmulos perivascularres eram mais densos, formados até por 6 camadas de células. Na cápsula interna, tálamo e tubérculos quadrigêmeos (Fig. 1) as lesões eram menos marcadas que no córtex; no cerebelo, pedúnculos cerebelares, ponte e medula oblonga, as alterações inflamatórias eram discretas. Todos os bezerros apresentavam áreas de necrose do córtex cerebral evidenciadas pela presença de macrófagos (células de Gitter), sendo que em algumas áreas a substância cinzenta estava totalmente substituída por esse tipo de células, permanecendo entre elas somente vasos sanguíneos com denso acúmulo perivascular de células inflamatórias (Fig. 2). Também se observava infiltração das meninges por células inflamatórias, que era mais severa nas áreas onde ocorriam lesões de necrose do córtex.

Nos pulmões dos animais n<sup>os</sup> 1 e 2 observava-se pneumonia intersticial com edema e congestão do septo interlobular; algumas áreas apresentavam broncopneumonia com acúmulo de células inflamatórias e algumas colônias bacterianas nos bronquíolos. As lesões do rúmen dos bezerros n<sup>os</sup> 2 e 3 apresentavam, na periferia, degeneração hidrópica das células superficiais do extrato espinhoso, em outras áreas observava-se infiltração leucocitária entre as células e perda das camadas superficiais; no centro da lesão somente permaneceram algumas células das camadas basais cobertas por uma crosta de fibrina, neutrófilos e restos celulares. Também se observava acantose e infiltração da submucosa por neutrófilos e células mononucleares. As lesões do abomaso caracterizaram-se por despreendimento das células epiteliais das criptas, assim como congestão, edema e infiltração de células mononucleares e alguns neutrófilos na lâmina própria. Não foram encontrados corpúsculos de inclusão em nenhum dos órgãos estudados.

**Deteção do vírus.** No teste de imunofluorescência foi

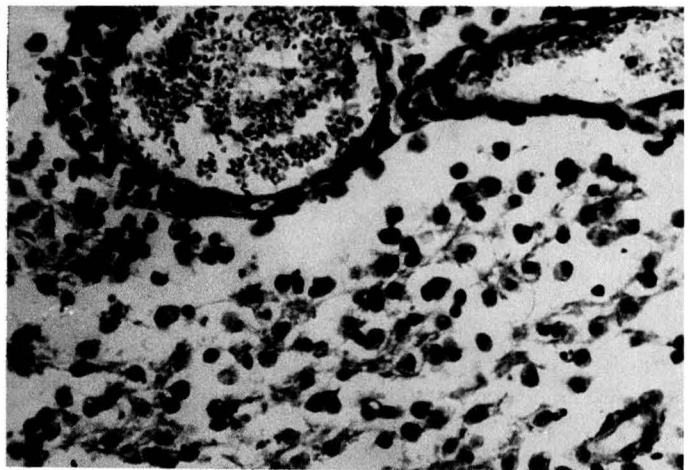


Fig. 2. Lesões de malácia no córtex cerebral de um bezerro do estabelecimento 1. As células de Gitter substituíram totalmente a substância cinzenta; observa-se um vaso sanguíneo com infiltrado linfocitário perivascular. HE, obj. 20.

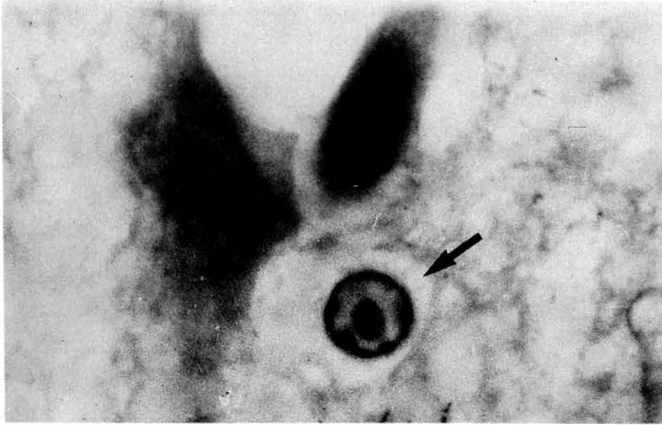


Fig. 3. *Córtex cerebral do bezerro necropsiado no estabelecimento 2, observando-se corpúsculo de inclusão intranuclear em um astrócito (a seta aponta o núcleo). HE, obj. 100.*

observada intensa fluorescência em células do sistema nervoso central caracterizando a infecção pelo HVB-1, uma vez que o conjugado é específico para esse vírus. Nos cultivos primários de pulmão de feto bovino apresentou-se efeito citopático característico do HVB-1, havendo a neutralização do vírus com o soro hiperimune específico no teste de soroneutralização.

#### *Estabelecimento 2*

Neste estabelecimento a doença foi observada no mês de novembro de 1983 em um bezerro de 12 dias de idade da raça Holandesa, que durante 2 dias apresentou incoordenação, movimentos de torção e quedas. No 3º dia o animal apresentava depressão profunda, sendo sacrificado. Na necropsia não foram observadas alterações de relevância.

No estudo histológico foram observadas lesões inflamatórias do encéfalo e das meninges de aspecto e distribuição similares às descritas nos animais do estabelecimento 1. Também foram observadas alterações degenerativas do córtex cerebral localizadas nas camadas médias e profundas da substância cinzenta onde os neurônios apareciam contraídos, com o citoplasma eosinofílico e o núcleo hiper cromático, havendo dilatação dos espaços perineuronais e perivascularares. Nessas áreas, tanto na substância cinzenta como na branca, os vasos sanguíneos apresentavam marcado acúmulo perivascular e proliferação endotelial com hemorragias em algumas áreas. A gliose era marcada e também se observavam neutrófilos em quantidade considerável. Numerosos astrócitos apresentavam corpúsculos de inclusão intranucleares, basofílicos, com um halo claro ao seu redor e a cromatina condensada na periferia (Fig. 3).

### DISCUSSÃO

A identificação do HVB-1 no cérebro de bezerros com encefalite no estabelecimento 1 confirma o diagnóstico da infecção por este vírus. No estabelecimento 2, apesar de

não terem sido inoculados cultivos celulares, nem ter sido realizado o teste de imunofluorescência direta, o diagnóstico foi confirmado pelas lesões histológicas características, com a presença de corpúsculos de inclusão intranucleares.

Uma característica das infecções do sistema nervoso central pelo HVB-1 é a de causar meningoencefalite não supurativa, associada a lesões necróticas do córtex cerebral (Hall et al. 1966, Eugster et al. 1974, Carrillo et al. 1983a, b, Dias et al. 1982, Hill et al. 1984), similares às observadas neste trabalho.

Com relação à distribuição das lesões inflamatórias no sistema nervoso, elas afetam tanto a substância branca como a substância cinzenta, sendo mais marcadas no telencéfalo, principalmente no córtex cerebral, diminuindo de intensidade no diencéfalo e mesencéfalo e sendo discretas no proencéfalo. Esta distribuição é similar a observada por Gardiner et al. (1964) e Eugster et al. (1974). No entanto, em um surto no Canadá, em novilhas que apresentavam ataxia e paralisia flácida do trem posterior, é mencionado que as lesões foram encontradas preferentemente na medula e pedúnculos cerebelares (Beck 1975). Outros autores não mencionam uma distribuição exata, mas descrevem também lesões inflamatórias em diversas áreas do encéfalo (Barenfus 1963, Hall et al. 1966, Watt et al. 1981, Carrillo 1983a, b, Hill et al. 1984).

Nos casos estudados neste trabalho somente foram encontrados corpúsculos de inclusão no animal necropsiado no estabelecimento 2, devido, provavelmente, ao curso clínico mais rápido da doença, o que foi evidenciado pela ausência de células Gitter nas lesões degenerativas do córtex. Nos animais do estabelecimento 1 o curso foi mais prolongado, não sendo observados corpúsculos de inclusão e aparecendo numerosas células de Gitter no córtex cerebral. Nos surtos mencionados em outros países, a presença de corpúsculos de inclusão também é variável; Crandell et al. (1959), em reproduções experimentais da forma respiratória da doença observaram corpúsculos de inclusão somente em animais sacrificados entre 36 e 60 horas após a inoculação do HVB-1.

Nos animais do estabelecimento 1, foram observadas lesões em outros órgãos, incluindo lesões erosivas no rúmen e abomaso. Este tipo de lesão é descrito por Reed et al. (1973) na forma sistêmica da enfermidade, o que evidencia, que, pelo menos nesse estabelecimento, o vírus causou uma infecção sistêmica, com severo envolvimento do sistema nervoso central. Formas nervosas com comprometimento do sistema digestivo e/ou respiratório são também mencionadas por diversos autores (Bagdadi & Martin 1974, Eugster et al. 1974, Dias et al. 1982, Watt et al. 1981).

Apesar de não ter sido realizada experimentalmente a inoculação de bovinos para determinar a patogenicidade do vírus nestes surtos, deve destacar-se que em algumas ocasiões o HVB-1 isolado de animais com sintomatologia nervosa tem evidenciado um tropismo especial pelo sistema nervoso central (Hall et al. 1966), tendo sido de-

monstrado que alguns isolamentos pertencem a uma variável antigênica diferente denominada HVB-1 tipo 3 (Schudel et al. 1986).

Deve ser destacado que os dois surtos ocorreram em diferentes anos em estabelecimentos localizados no distrito de Santa Isabel, município de Rio Grande, sem que existissem antecedentes de introdução recente de animais. Nessa mesma região foram também diagnosticados 2 surtos de rinotraqueíte causada pelo HVB-1 em animais de diversas categorias durante o mês de janeiro de 1987 (Riet-Correa et al. 1987, dados não publicados). Esses fatos pareceriam indicar que nessa área existem infecções latentes pelo HVB-1 na população bovina, ocorrendo surtos em forma esporádica. Em outras áreas do Estado, apesar de não ter sido comunicada a ocorrência da enfermidade, foram encontrados títulos para o HVB-1 em soros de 33% de 229 bovinos provenientes de 11 municípios (Wizigman et al. 1972).

#### REFERÊNCIAS

- Alice F.J. 1978. Isolamento do vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) no Brasil (nota prévia). *Revta Brasil. Biol.* 38:919-920.
- Bagdadi V.M. & Martin J. 1974. Ueber das Vorkommen von Meningoencephalitis im Verlaufe von IBR-Infektionen bei Kaelbern und Jungrindern. *Mh. Vet. Med.* 28:253-257.
- Barenfus M., Delli Duadri C.A., McIntre R.W. & Shroeder R.J. 1963. Isolation of infectious bovine rhinotracheitis virus from calves with meningoencephalitis. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 143:725-728.
- Bartha A., Hadju G., Aldassy P. & Paczolay G. 1969. Occurrence of encephalomyelitis caused by infectious bovine rhinotracheitis in calves in Hungary. *Acta. Vet. Acad. Scient. Hung.* 19:145-151.
- Beck B.E. 1975. Infectious bovine rhinotracheitis encephalomyelitis in cattle and its differential diagnosis. *Can. Vet. J.* 16:269-271.
- Carrillo B.J., Pospischil A. & Dahme E. 1983a. Pathology of a bovine viral encephalitis in Argentina. *Zbl. Vet. Med.* B30:161-168.
- Carrillo B.J., Ambrogi A., Schudel A.A., Vasquez M., Dahme E. & Pospichil A. 1983b. Meningoencephalitis caused by IBR virus in calves in Argentina. *Zbl. Vet. Med.* B30:327-332.
- Crandell R.A., Cheatham W.J. & Maurer F.D. 1959. Infectious Bovine rhinotracheitis. The occurrence of intranuclear inclusion bodies in experimentally infected animals. *Am. J. Vet. Res.* 20:505-509.
- Dias L.E., Maisonnave J., Guarino H., Paullier C., Perdomo E., Figares A. & Izaguirre R. 1982. Rinotracheitis infecciosa bovina (IBR). Descripción de un cuadro clínico en terneros de tambo. *Anais III Congreso Nacional de Veterinaria, Montevideo, Uruguai*, p. 521-527.
- Eugster A.K., Angulo A.B. & Jones L.P. 1974. Herpesvirus encephalitis in range cattle. Abstracts. 17<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Virginia, p. 267-281.
- Gardiner M.R. & Nairn M.E. 1964. Viral meningoencephalitis of calves in Western Australia. *Aust. Vet. J.* 40:225-228.
- Gibbs E.P.J. & Rewyemamu M.M. 1977. Bovine Herpesvirus. Part. I. Bovine Herpesvirus-1. *Vet. Bull.* 47:317-343.
- Gough A. & James A. 1975. Isolation of IBR virus from a heifer with meningoencephalitis. *Can. Vet. J.* 16:313-314.
- Hall W.T.K., Simmons G.C., French E.L., Snodwdon W.A. & Asdell M. 1966. The pathogenesis of encephalitis caused by the infectious bovine rhinotracheitis virus. *Aust. Vet. J.* 42:229-237.
- Hill B.D., Hill M.W.M., Chung Y.S. & Whittle R.J. 1984. Meningoencephalitis in calves due to bovine herpesvirus type 1 infection. *Aust. Vet. J.* 61:242-243.
- Johnston L.A.Y., Simmons G.C. & McGavin M.D. 1962. A viral meningoencephalitis in calves. *Aust. Vet. J.* 38:207-215.
- Mueller S.B.K., Ikuno A.A., Campos M.T.G.R. & Ribeiro L.O.C. 1978. Isolamento e identificação do vírus da rinotraqueíte bovina infecciosa dos bovinos de um rim de feto bovino. *Arqs Inst. Biol., S. Paulo*, 45:187-190.
- Mueller S.B.K., Ikuno A.A., Campos M.T.G.R., Ribeiro, L., Barbosa H.S.Q. & Oliveira B.O.A. 1979. Ocorrência simultânea de alterações respiratórias e genitais associadas à rinotraqueíte bovina infecciosa dos bovinos/vulvovaginite pustular infecciosa IBR/IPV em um rebanho no Estado de São Paulo. *Biológico, S. Paulo*, 45:55-60.
- Nogueira F.R.C., Camargo A.J.R., Resende O.A. & Leite R.C. 1986. Ocorrência de rinotraqueíte infecciosa bovina/vulvovaginite pustular infecciosa em bovinos no Estado do Rio de Janeiro. *Comunicado Técnico nº 167, Pesagro-Rio*, p. 1-5.
- Reed D.E., Bitkell E.D. & Bury R.J. 1973. Systemic form of infectious bovine rhinotracheitis in young calves. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 156:753-755.
- Schudel A.A., Carrillo B.J., Wyler R., Metzler A.E. 1986. Infections of calves with antigenic variants of Bovine herpesvirus 1 (BHV-1) and neurological disease. *J. Vet. Med.* B33:303-310.
- Watt J.A., Johnston W.S., Macleod N.S. & Borlow R.M. 1981. Infectious bovine rhinotracheitis encephalitis. *Vet. Rec.* 108:63-64.
- Wizigmann G., Vidor T. & Ricci Z.M.T. 1972. Investigações sorológicas sobre a ocorrência e incidência dos vírus PI-3, IBR e diarreia a virus-enfermidade das mucosas dos bovinos no Estado do Rio Grande do Sul. *Bolm Inst. Pesq. Vet. Desidério Finamor, Porto Alegre*, esp. 1:52-58.