

amostras de sistema nervoso central (SNC) de equinos que morreram apresentando sinais neurológicos e tiveram amostras colhidas e enviadas para o LSA/IMA. Nove diferentes agentes que causam doença neurológica em equinos foram pesquisados: raiva, herpesvírus equino 1 (EHV-1), herpesvírus equino 4 (EHV-4), vírus da encefalite equina do leste (EEEV, do inglês *Eastern equine encephalitis virus*), vírus da encefalite equina do oeste (WEEV, do inglês *Western equine encephalitis virus*), vírus da encefalite venezuelana (VEEV, do inglês *Venezuelan equine encephalitis virus*), vírus da encefalite de Saint Louis (SLEV, do inglês *Saint Louis encephalitis virus*), vírus da encefalite de West Nile (WNEV) e *Sarcocystis neurona*, agente da mieloencefalopatia protozoária. Das 217 amostras de SNC, 47 (21,7%) foram positivas para o vírus da raiva pelas técnicas de imunofluorescência direta (IFD) e inoculação intracerebral em camundongos. Nas 170 amostras restantes, negativas para o vírus da raiva, o DNA do EHV-1 foi detectado em 20 (11,8%) e o cDNA do SLEV em uma amostra, pelas técnicas de reação em cadeia pela polimerase (PCR) e transcrição reversa seguida de PCR (RT-PCR), respectivamente. Das amostras de SNC acondicionadas em formol, 10% foram avaliadas histologicamente. Alterações circulatórias como hiperemia e hemorragias multifocais, associadas ou não a trombo vascular, foram frequentes nas infecções por EHV-1 e raiva e obtiveram diferença significativa quando comparadas com os animais negativos. Para confirmar o diagnóstico, os produtos de PCR obtidos foram sequenciados e os vírus isolados em cultivo celular. O presente estudo demonstrou que o vírus da raiva é o principal agente causador de encefalite em equinos, apesar do crescente número de casos de encefalomielite associados ao EHV-1 no Estado de Minas Gerais. No entanto, apesar de evidências sorológicas comprovarem a circulação do SLEV no Brasil, este foi o primeiro relato de isolamento do SLEV do sistema do SNC de um equino que morreu com sinais neurológicos no País.

*Bolsista DTI-1 do Edital CNPq/Mapa/SDA N° 064/2008, projeto 578385/2008-2.

¹Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Av. Antônio Carlos, 6627, CEP 31.270-901, Belo Horizonte, MG, Brasil.
E-mail: rsantos@vet.ufmg.br

²Instituto Mineiro de Agropecuária, Belo Horizonte, MG, Brasil.

³Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Belo Horizonte, MG, Brasil.

Investigation of neurological diseases in equine tested negative for rabies

Investigação de doenças neurológicas em equinos testados negativos para raiva

Cunha, E.M.S.¹; Lara, M.C.C.S.H.¹; Villalobos, E.M.C.¹; Nassar, A.F.C.¹; Del Fava, C.¹; Scannapieco, E.M.^{1*}; Cunha, M.S.¹; Mori, E.²; Gomes, M.N.³

There are several central nervous system (CNS) diseases that can infect horses, and the differential diagnoses are therefore necessary. Clinically these diagnoses are often difficult once the degrees of ataxia and paresis are similar. The most commonly encountered abnormalities that may result in neurological dysfunction include trauma, equine herpesvirus, Eastern, Western and Venezuelan equine encephalomyelitis (EEE, WEE, VEE), leukoencephalomalacia, protozoan myeloencephalitis and bacterial encephalitis. The aim of this work was to identify the main diseases with neurological signs in equine after negative diagnosis for rabies. From April 2007 to June 2011, 167 samples of CNS

from animals that have died with neurological signs were submitted for rabies diagnosis by FAT (fluorescent antibody test) and MIT (mouse inoculation test). Those tested negative were further submitted to other analysis. Samples of the CNS were inoculated in cell culture and submitted to PCR for detection of herpesvirus and equine encephalomyelitis. In order to investigate the growth of bacteria, isolation in 5% blood agar and biochemical identification was performed. For the histological examination, CNS tissue samples were placed in 10% neutral buffered formalin and embedded in paraffin, sectioned and stained with hematoxylin eosin. Our data confirmed rabies in 23 (13,8%) cases. Of 144 samples tested negative for rabies, 10 (7,0%) were positive for leukoencephalomalacia, 4 (2,8%) for herpetic myeloencephalitis and 12 (8,3%) for bacterial encephalitis. This study highlights the importance of including different diagnosis in samples from equine with neurological disease.

Financial support: CNPq/Mapa.

*Bolsista CNPq/MAPA.

¹Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal, Av. Cons. Rodrigues Alves, 1252, CEP 04014-002, São Paulo, SP, Brasil.

E-mail: cunha@biologico.sp.gov.br

²Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da São Paulo, SP, Brasil.

³Defesa Animal de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

Caracterização molecular do genoma de cepas do vírus da raiva correlacionadas à imunopatologia e desenvolvimento de RT-PCR em tempo real

Molecular Characterization of rabies virus strains correlated with immunopathology and the development of a real-time RT-PCR

Casseb, L.M.N.¹; Barbosa, T.F.S.¹; Travassos da Rosa, E.S.¹; Pereira, A.S.¹; Nunes, M.R.T.¹; Medeiros, D.B.A.¹; Quaresma, J.A.S.²; Fernandes, E.R.³; Duarte, M.I.S.³; Vasconcelos, P.F.C.¹

O projeto visa a caracterizar molecularmente o genoma de cepas de raiva (variantes antigênicas 2 e 3) e sua associação com a patogenia, bem como realizar a quantificação do RNA viral por RT-PCR em tempo real. Foram realizados os procedimentos de infecção experimental em camundongos albinos suíços com idade de 21 dias com duas cepas em diferentes vias de administração. Os animais foram observados diariamente e as coletas iniciaram-se a partir do 5º dia pós-inoculação. Foram obtidas sequências nucleotídicas do genoma completo do VRab em sequenciador 454 e também foram obtidos amplicons de 490 pb determinados entre as posições 868 e 1359 da nucleoproteína pelo método de Sanger. Os produtos obtidos pelo método de pirosequenciamento estão sendo montados para análise filogenética e genômica. Observou-se que os animais infectados pela via intracerebral foram a óbito até o 15º dia PI, e alguns animais infectados pelas vias musculares permanecem em observação sem apresentar sinais de doença, mesmo após 90 dias. Das amostras coletadas dos animais, parte está armazenada em freezer a -70º C para estudos posteriores e parte foi fixada em formol e está sendo incluída em parafina para proceder aos estudos histológicos e de imunohistoquímica. O estudo desenvolvido até o momento permitiu as seguintes conclusões: foi possível obter produtos do genoma completo pelo método de pirosequenciamento das amostras em estudo, que estão em análise; os anticorpos para imunohistoquímica estão sendo adquiridos, bem como o treinamento de recursos humanos para realização das técnicas histológicas e de imunohistoquímica.

Apoio Financeiro: MCT/ CNPq/ Mapa / SDA n° 64/2008.